

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

ARIANDERSON FERNANDO ALVES DOS SANTOS

**MILHO INOCULADO COM *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*
CONSORCIADO COM FEIJÃO-CAUPI INOCULADO COM
*RHIZOBIUM SP.***

Recife

2020

Arianderson Fernando Alves dos Santos
Engenheiro Agrônomo

**Milho inoculado com *Azospirillum brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado
com *Rhizobium* sp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Fernando José Freire
Coorientador: Prof. Dr. Mário Andrade Lira Júnior
Coorientador: Prof. Dr. Renato Lemos dos Santos

Recife
2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S237

Santos, Arianderson Fernando Alves dos

Milho inoculado com *Azospirillum brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp / Arianderson Fernando Alves dos Santos. - 2020.
67 f.

Orientador: Fernando Jose Freire.

Coorientador: Renato Lemos dos Santos.

Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Recife, 2020.

1. *Zea mays*. 2. Adubação nitrogenada. 3. Fixação biológica de N. 4. Bactérias promotoras de crescimento vegetal. 5. Consórcio milho/feijão. I. Freire, Fernando Jose, orient. II. Santos, Renato Lemos dos, coorient. III. Título

CDD 631.4

ARIANDERSON FERNANDO ALVES DOS SANTOS

**Milho inoculado com *Azospirillum brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado
com *Rhizobium* sp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Prof. Dr. Fernando José Freire
Orientador
Universidade Federal Rural de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Emídio Cantídio Almeida de Oliveira
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Vinicius Santos Gomes da Silva
Instituto Federal de Pernambuco

A minha mãe, avó, irmãos, namorada e amigos.

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a vida, a fé, a perseverança e a consciência de que não teria concluído este trabalho, da maneira que foi realizado, sem a ajuda de todos citados abaixo, e de outros, que por falha, esqueci de citar.

A minha mãe, Christiane Carla Alves, por toda luta, conselhos e sacrifícios para que eu tivesse oportunidade de estudar e seguir minha vocação.

A minha namorada Aline Coutinho, pela paciência, carinho, apoio, ... enfim, por todo amor.

As minhas irmãs: Arianny; Ariadinny; e aos meus sobrinhos: Bernardo e Brenda.

A toda a minha família.

Aos professores Fernando Freire e Renato Lemos, pela amizade, companheirismo, orientação, paciência, apoio, ensinamentos e tempo dedicados durante todo o trabalho.

Aos professores Emídio Oliveira e Vinicius Santos por toda atenção, paciência e ensinamentos.

A todos os professores do PPGCS, representados pelo prof. Edivan Rodrigues de Souza, pelo conhecimento transmitido e dedicação, em especial para as professoras Maria Betânia, Giselle Fracetto, Caroline Biondi, Ana Dolores e os professores Brivaldo Almeida, Emídio Oliveira, Valdomiro Junior, Mateus Filho, José Coelho.

A toda equipe do laboratório de Fertilidade e Agroenergia, IFPE/CVSA, sem vocês eu não teria conseguido completar as atividades em tempo hábil, em especial: Raul, Márcio, Isabel, Adriene, Cleybson, Allison, Eronildo, Caroline, Kamylla, Mykaela, Israel, Ivanderson, Juca, Evaldo, Ebersson, Fernando, tanto no campo, quanto no laboratório.

Ao prof^o Vinicius Santos Gomes da Silva, IFPE/CVSA, pela disponibilização das sementes de feijão-caupi e no inoculante.

A todos os amigos que fiz durante as disciplinas prestadas no Programa, em especial Amanda que sempre me sempre que pedi sua ajuda.

A UFRPE, pela oportunidade de ingressar na profissão de Engenheiro Agrônomo, e seus funcionários, em especial Maria do Socorro, por todo apoio prestado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, por todo conhecimento adquirido e por toda a credibilidade.

A FACEPE, pela concessão da bolsa.

Aos funcionários da Fazenda Espinho Preto e a Rodrigo, proprietário, por toda disposição.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação profissional e a realização deste trabalho.

Obrigado.

**“É necessário sempre acreditar que o sonho é possível
Que o céu é o limite e você, é imbatível
Que o tempo ruim vai passar, é só uma fase
Que o sofrimento alimenta mais a sua coragem
Que a sua família precisa de você
Lado a lado se ganhar pra te apoiar se perder...”**

**“É isso aí você não pode parar
Esperar o tempo ruim vir te abraçar
Acreditar que sonhar sempre é preciso
É o que mantém os sonhos vivos...”**

**“Acreditar e sonhar
E sonhar
E sonhar”**

Letra de A Vida é Desafio, Racionais Mc's.

BIOGRAFIA

ARIANDERSON FERNANDO ALVES DOS SANTOS, filho de Christiane Carla Alves e Gelvane Alves dos Santos, nascido em 13 de junho de 1993, na cidade do Recife, Pernambuco. Coursou o ensino médio na Escola Técnica Estadual Cícero Dias, onde também conclui o curso Técnico em Multimídia em 2012. No segundo semestre de 2013, ingressou no curso de Agronomia na Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE, Recife/PE, graduando-se no primeiro semestre do ano de 2018. Em março de 2018 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, no Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo na UFRPE.

Milho inoculado com *Azospirillum brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp.

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal mais cultivado no mundo, tendo o Brasil como o terceiro maior produtor mundial. Diante do custo ambiental associado à utilização de fertilizantes nitrogenados minerais, da importância do milho para agricultura familiar e da elevada demanda por N dessa cultura, torna-se necessária a busca por alternativas sustentáveis, que reduzam a quantidade de fertilizantes nitrogenado utilizado pela cultura. Neste contexto, a fixação biológica de N desponta como uma alternativa de uso nos sistemas produtivos, suprimindo total ou parcialmente a utilização do adubo nitrogenado, através da inoculação do milho com *A. brasilense*. No entanto, essa inoculação ainda necessita de uma complementação com 50% de N mineral. Diante disso, uma alternativa que pode se revelar interessante é o cultivo em consórcio milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp., que pode ser um transferidor dos 50% do N. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento, acúmulo de N, produção de matéria seca e produtividade do milho inoculado com *A. brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. O experimento foi conduzido em campo na fazenda Espinho Preto em Passira, PE e consistiu no cultivo de milho combinado com inoculação ou não com a bactéria *A. brasilense* e consorciado ou não com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp., além da aplicação ou não de N. Aos 38, 47, 62, 75 e 90 dias após o plantio (DAP) foi avaliado o crescimento das plantas, produção de matéria seca da parte aérea e acúmulo de N. Aos 90 DAP foi realizada a avaliação da produtividade do milho verde. A inoculação do milho com *A. brasilense* incrementou a promoção de crescimento vegetal, a produção de matéria seca e o acúmulo de N, bem como promoveu maior produtividade do milho verde. O feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. em consórcio com milho inoculado com *A. brasilense* não prejudicou o desenvolvimento e a produtividade do milho. O milho inoculado com *A. brasilense*, independente do consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. ou suplementado com 50% de N, teve o crescimento e foi tão produtivo quanto o milho adubado com 100% da dose recomendada de N.

Palavras-chave: *Zea mays*. Adubação nitrogenada. Fixação biológica de N. Bactérias promotoras de crescimento vegetal. Consórcio milho/feijão.

Maize inoculated with *Azospirillum brasilense* intercropped with cowpea inoculated with *Rhizobium* sp.

ABSTRACT

Corn (*Zea mays* L.) is the most cultivated cereal in the world, with Brazil as the third largest producer in the world. In view of the environmental cost associated with the use of nitrogenous mineral fertilizers, the importance of corn for family farming and the high demand for N in this crop, it is necessary to search for sustainable alternatives that reduce the amount of nitrogen fertilizers used by the crop. In this context, the biological fixation of N emerges as an alternative of use in productive systems, supplying totally or partially the use of nitrogen fertilizer, through the inoculation of corn with *A. brasilense*. However, this inoculation still needs to be supplemented with 50% mineral N. Therefore, an alternative that may prove interesting is the intercropping of corn inoculated with *A. brasilense* + cowpea inoculated with *Rhizobium* sp., Which can be a transferor of 50% of N. Therefore, the objective of this work was evaluate growth, N accumulation, dry matter production and productivity of corn inoculated with *A. brasilense* intercropped with cowpea inoculated with *Rhizobium* sp. The experiment was conducted in the field at the Espinho Preto farm in Passira, PE and consisted of growing corn combined with inoculation or not with the bacterium *A. brasilense* and intercropped or not with cowpea inoculated with *Rhizobium* sp., In addition to application or not At 38, 47, 62, 75 and 90 days after planting (DAP), plant growth, shoot dry matter production and N. accumulation were evaluated. At 90 DAP, maize productivity was evaluated green. The inoculation of corn with *A. brasilense* increased the promotion of plant growth, the production of dry matter and the accumulation of N, as well as promoting greater productivity of green corn. Cowpea inoculated with *Rhizobium* sp. in a consortium with corn inoculated with *A. brasilense* did not affect the development and productivity of the corn. Corn inoculated with *A. brasilense* does not depend on the consortium with cowpea inoculated with *Rhizobium* sp. or supplemented with 50% N, grew and was as productive as corn fertilized with 100% of the recommended dose of N.

Key words: *Zea mays*. Nitrogen fertilization. Biological N fixation. Plant growth promoting bacteria. Corn/bean consortium.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Volume de água precipitado na área experimental pelas chuvas e adicionado via irrigação, na Fazenda Espinho Preto, em Passira – PE31
- Figura 2. Altura da planta (A), diâmetro do colmo (B) e área foliar (C) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 38, 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP). ** e *** Significativo a 1 e 0,1% de probabilidade38
- Figura 3. Altura da planta (A), diâmetro do colmo (B) e área foliar (C) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 90 dias após o plantio (DAP). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$)39
- Figura 4. Matéria seca da parte aérea do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 38, 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP) (A); Teste de média entre os tratamentos aos 90 DAP (B); e contraste entre os tratamentos inoculados versus sem inoculação e Milho-Inoculado-consorciado versus milho adubado (C). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$). ***Significativo a 0,1% de probabilidade43
- Figura 5. Período (DAP), acúmulo relativo (AR) (Mg ha^{-1}), taxa máxima de acúmulo (TMAC) e acúmulo total (AT) de matéria seca da parte aérea nas fases de desenvolvimento do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp45
- Figura 6. Matéria seca da folha (A) e do colmo (B) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 38, 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP). ** e *** Significativo a 1 e 0,1% de probabilidade47
- Figura 7. Acúmulo de N na parte aérea do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com

Rhizobium sp. aos 38, 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP) (A); Teste de média entre os tratamentos aos 90 DAP (B); e contraste entre os tratamentos Milho-Inoculado-consorciado versus milho adubado e inoculados versus sem inoculação (C). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ***Significativo a 0,1% de probabilidade49

Figura 8. Período (DAP), acúmulo relativo (AR) (Mg ha^{-1}), taxa máxima de acúmulo (TMAC) e acúmulo total (AT) de N na parte aérea nas fases de desenvolvimento do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp51

Figura 9. Teor de N nas folhas (A) e nas raízes (B) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP). ** e *** Significativo a 10 e 1% de probabilidade (teste t)52

Figura 10. Teor de N nos grãos do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi com *Rhizobium* sp. aos 90 dias após o plantio (DAP)54

Figura 11. Diâmetro da espiga com palha (A) e sem palha (B); comprimento da espiga com palha (C) e sem palha (D) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 90 dias após o plantio (DAP). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)55

Figura 12. Produtividade do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 90 dias após o plantio (DAP) (A); Contraste entre os tratamentos Milho-Inoculado-consorciado versus milho adubado e inoculados versus sem inoculação (B). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo na profundidade de 0 a 0,2 m na área do ensaio de campo na Fazenda Espinho Preto, em Passira – PE	32
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	23
1.1. Hipóteses	24
1.2. Objetivo Geral	25
1.3. Objetivos específicos.....	25
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1 A cultura do milho (<i>Zea mays</i> L.).....	25
2.2 Uso do N na cultura do milho e os benefícios da inoculação.....	26
2.3. O consorcio milho/feijão e a importância do N.....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1. Descrição da área experimental.....	30
3.2. Descrição do ensaio experimental	32
3.3. Implantação e condução do experimento	33
3.4. Avaliação de variáveis na planta	34
3.4.1. Monitoramento do crescimento vegetativo e produção de matéria seca.....	34
3.4.2. Teor e acúmulo de N na MSPA e teor de N nas raízes e grãos.....	35
3.4.3. Taxa máxima de MSPA e acúmulo de N	35
3.4.4. Avaliação biométrica e produtividade da espiga.....	36
3.4.4.1. Comprimento, diâmetro e produtividade da espiga com e sem palha.....	36
3.4.5. Análise estatística	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1. Variáveis biométricas: altura da planta, diâmetro do colmo e Área foliar.....	37
4.2. Acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSPA).....	42
4.3. Acúmulo de matéria seca nos componentes da parte aérea.....	47
4.4. Acúmulo de N na parte aérea	48
4.5. Teor de N nas folhas e nas raízes	52
4.6. Teor de N nos grãos.....	54
4.7. Desenvolvimento e produtividade do milho verde.....	54
4.7.1. Diâmetro e comprimento da espiga com e sem palha.....	55
4.7.2. Produtividade do milho	57
5. CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1 INTRODUÇÃO

O milho está na história do Brasil desde os primórdios do descobrimento, sendo cultivado por tribos indígenas das regiões Centro-Oeste, tendo grande importância econômica e social (RIBEIRO, 2013). Econômica, pelo valor nutricional de seus grãos e por seu uso na alimentação humana e animal, bem como matéria-prima para a indústria. Social, por ser um alimento de baixo custo, pela viabilidade de cultivo, tanto em grande, quanto em pequena propriedade, e por ser à base de várias cadeias agroindustriais, como a da carne de frango. Portanto, o milho é um dos principais cereais cultivado no mundo e o segundo grão mais cultivado no território brasileiro (CONAB, 2014).

O cultivo do milho no Brasil vem passando por mudanças tecnológicas, resultando em ganhos significativos de produtividade. A área brasileira cultivada com o cereal praticamente não se alterou nos últimos anos e os recordes de produção se devem em grande parte ao aumento da produtividade (CONTINI et al., 2019). Assim, é importante pesquisas com o objetivo de melhorar o manejo das tecnologias voltadas para elevação de produtividade da cultura do milho, principalmente como viés de sustentabilidade, como por exemplo a inoculação com microrganismos promotores de crescimento vegetal.

O cultivo do milho destaca-se por possuir elevada exigência nutricional. As necessidades nutricionais de qualquer planta são determinadas pela quantidade de nutrientes que extrai durante o seu ciclo. Embora apresente elevada taxa fotossintética, o milho é uma cultura muito influenciada por problemas de estresse ambiental, dentre os quais se destacam aqueles relacionados a baixa fertilidade dos solos.

O N é um dos nutrientes que apresentam os efeitos mais expressivos no aumento da produção de grãos na cultura do milho. Apresenta grande importância como constituinte de moléculas de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucléicos e citocromos, além de ser integrante da molécula de clorofila (GROSS; VON PINHO; BRITO, 2006). Mundstock e Silva (2005) salientaram que para cada tonelada de grãos produzidos a planta necessita extrair 27,7 kg de N do solo. Desta forma, verifica-se que o N é limitante no aumento da produtividade da cultura, além de ser o mais oneroso nos custos da adubação, podendo chegar a 40% (MUNDSTOCK; SILVA, 2005).

Uma alternativa para melhorar o desempenho do milho está na utilização de inoculantes à base de bactérias que induzem efeitos positivos no crescimento das plantas. Desta forma, Hungria et al. (2010) ressaltaram a importância do gênero *Azospirillum*, que é composto por espécies de bactérias gram-negativas de vida livre no solo que colonizam as raízes de muitas

plantas cultivadas, principalmente gramíneas. O principal atributo de importância agrônômica está na capacidade deste inoculante fixar N_2 atmosférico, com reflexo no crescimento das plantas, ganhos de produtividades de grãos e diminuições dos gastos com fertilizantes nitrogenados.

Contudo, os efeitos benéficos da inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* não é suficiente para reduzir totalmente o uso da adubação nitrogenada, reduzindo apenas em certa de 50% a utilização do adubo mineral (LIPÓRIO et al., 2015).

Diante disso, uma alternativa que pode se revelar interessante é o cultivo em consórcio milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp., que pode ser um transferidor do N ainda exigido na relação milho inoculado com *A. brasilense*.

O plantio em consórcio milho/feijão-caupi é um dos sistemas agrícolas mais comuns entre os agricultores de base familiar. Como raramente são utilizados fertilizantes nitrogenados nesse sistema, as culturas contam com a fixação biológica de N (FBN) nativa e com a decomposição da matéria orgânica do solo como únicas fontes de N.

O consórcio milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. pode beneficiar o agricultor de base familiar porque se utilizará do processo de FBN do feijão-caupi, além da promoção de crescimento proporcionada pelo *A. brasilense*, que também realiza FBN, para o N necessário para o cultivo do milho inoculado, formando uma simbiose eficiente com rizóbios, algo similar a co-inoculação de leguminosas com rizóbio e bactérias promotoras de crescimento, que tem sido proposta como uma tecnologia capaz de aumentar a nodulação, estimular o crescimento de plantas e beneficiar o processo de fixação de N_2 atmosférico.

Vários estudos têm demonstrado a eficácia da co-inoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* em aumentar o rendimento dos grãos (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2015), em manter a nodulação sob condições de estresses hídricos moderados (CEREZINI et al., 2016) e em promover a precocidade da nodulação (CHIBEBA et al., 2015). Esta tecnologia foi aprovada e registrada para utilização com esta leguminosa pela agência regulatória no Brasil (CHIBEBA et al., 2015).

1.1. Hipóteses

A inoculação com *A. brasilense* promove no milho maior crescimento vegetal, acúmulo de matéria seca, acúmulo de N e produtividade, do que o milho sem inoculação;

O milho inoculado com *A. brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. apresenta crescimento vegetal, acumula matéria seca e N e é tão produtivo quanto o milho inoculado com *A. brasilense* sob complementação de 50% da adubação nitrogenada;

O milho inoculado com *A. brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. ou suplementado com 50% de N é tão produtivo quanto o cultivo de milho solteiro fertilizado com N.

1.2. Objetivo Geral

Avaliar o crescimento, acúmulo de N, produção de matéria seca e produtividade do milho inoculado com *A. brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp.

1.3. Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos da inoculação do milho inoculado com *A. brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. sobre o desenvolvimento do milho ao longo do ciclo de cultivo nas diferentes fases fenológicas, analisando variáveis biométricas, como diâmetro, altura e área foliar;
- Estimar a produtividade de biomassa e acúmulo de N da parte aérea de milho em cultivos solteiros e consorciados nas diferentes fases fenológicas;
- Calcular taxa de máxima produção de matéria seca da parte aérea e acúmulo de N e estimar com quantos DAP essa taxa máxima ocorre;
- Estimar o número de dias de duração de cada fase de produção de matéria seca da parte aérea e acúmulo de N;
- Avaliar a produtividade do milho verde.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do milho (*Zea mays* L.)

Originário da América, o milho, que pertence à família das Poaceae, foi a alimentação básica de várias civilizações importantes ao longo dos séculos, sendo consumido pelos povos americanos desde 5.000 a.C. Os Maias, Astecas e Incas reverenciaram o cereal na arte e religião e grande parte de suas atividades diárias eram ligadas ao seu cultivo. No período das grandes navegações no século XVI, a cultura do milho se expandiu para outras partes do mundo.

Atualmente é cultivado e consumido em todo o mundo e sua produção só perde é menor do que a do trigo e do arroz (ABIMILHO, 2019).

No Brasil, o milho era cultivado pelos índios, principalmente pelos guaranis, antes mesmo da chegada dos portugueses, porque eles utilizavam o grão como um dos principais itens de sua dieta. Mas foi com a chegada dos colonizadores, cerca de 500 anos atrás, que o consumo do cereal no país aumentou consideravelmente e passou a integrar o hábito alimentar da população (APROSOJA, 2019).

Devido ao valor nutricional de seus grãos, trazendo em sua composição vitaminas A e do complexo B, proteínas, gorduras, carboidratos, cálcio, ferro, fósforo, amido, a cultura tem grande importância econômica, principalmente pelo seu uso na alimentação humana e animal, por ser uma importante fonte energética, além de ser utilizado como matéria-prima para a indústria (PAZ et al., 2017).

O milho é uma gramínea importante no cenário agrícola mundial. Esta cultura, reconhecida pelos múltiplos usos, ainda é o alimento de subsistência para a população de países em desenvolvimento, como por exemplo, no Brasil e na África, onde o consumo tem superado 300 g/pessoa/dia (RANUM; PEÑA-ROSAS; GARCIA-CASAL, 2014). No Brasil, o milho também é produzido em grandes áreas para o uso como forrageira, sendo um dos principais componentes da ração animal (PAVÃO; FERREIRA FILHO, 2011).

De acordo com a Conab (2019), estima-se que a cultura do milho ocupe 17.496,2 milhões de hectares, com produção de 100.046,3 milhões de toneladas de grãos. Estados Unidos e China, respectivamente, são os maiores produtores mundiais. O Brasil é o terceiro nesse ranking de produção do grão, tendo como os principais estados produtores, em ordem de produção decrescente: Mato Grosso, Paraná, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Pernambuco é o 6º maior produtor do Nordeste e 18º do Brasil, com área plantada de 218,4 mil hectares e produção de 115,4 mil toneladas de grãos (CONAB, 2019).

2.2 Uso do N na cultura do milho e os benefícios da inoculação

Os sistemas de produção em todo mundo variam com os fatores climáticos e com a fertilidade do solo. Existe um requerimento de nutrientes, sobretudo de N para o pleno desenvolvimento das culturas. Os fertilizantes nitrogenados passaram a ser utilizados em maior quantidade, após o desenvolvimento do processo Haber-Bosch no início do século XX, bem como o advento da “Revolução Verde”, quando surgiram novos genótipos com maior capacidade de resposta às aplicações de N (HAWKESFORD, 2014). Estima-se que aproximadamente 100 Mt ano⁻¹ de N fixado industrialmente seja utilizado pela agricultura em

todo o mundo. No Brasil, em 2016, a quantidade de fertilizantes nitrogenados destinados ao uso agrícola foi de 4,4 Mt ano⁻¹ (FAOSTAT, 2016).

A adubação nitrogenada representa um alto custo ambiental, uma vez que a produção de fertilizantes requer um elevado consumo de energia, representando 1,2% da demanda global de energia primária, proveniente em grande parte de fontes naturais não-renováveis (AHLGREN et al., 2010). Além disso, estima-se que apenas 30-50% do N aplicado seja absorvido pelas culturas, sendo o restante perdido por lixiviação, volatilização e desnitrificação (VIEIRA, 2017).

A perda de N no sistema solo/planta contribui para a contaminação do lençol freático por nitrato, bem como a poluição atmosférica através das reações dos óxidos nitroso, nítrico e da amônia. Esses processos podem afetar a saúde humana, as culturas agrícolas e os ecossistemas terrestres e aquáticos (CHOUDHURY; KENNEDY, 2005).

O manejo nutricional é um fator importante para que o milho expresse o máximo do seu potencial produtivo. O N é o nutriente exigido em maior quantidade pela cultura, sendo que as recomendações da adubação em cobertura em sistema de sequeiro variam de 10 a 170 kg ha⁻¹ de N, conforme a cultura anterior e a produtividade esperada (MOREIRA et al., 2017).

A absorção do N está envolvida diretamente com o aumento da produção de massa seca, proteína bruta e fibra bruta (AMIM, 2011) e no rendimento de grãos de milho (YAN et al., 2017). Com relação ao requerimento de N, dados na literatura mostram boa resposta do milho a faixas de 90 a 316 kg ha⁻¹ (ANDRADE et al., 2012; SANTOS et al., 2013; ROBERTS et al., 2016).

A produção agrícola está intimamente relacionada com a nutrição das plantas. Para a obtenção de elevada produtividade em paralelo a redução do adubo nitrogenado se faz necessário à busca por alternativas que aumentem a eficiência do uso do N pelas plantas, sobretudo em gramíneas com alta produção de biomassa vegetal, e as que necessitam quantidades demasiadas de N (FLORES et al., 2012).

Diante do custo ambiental associado à utilização de fertilizantes nitrogenados minerais, da importância agrícola do milho e da elevada demanda por N dessa cultura, torna-se necessária a busca por alternativas sustentáveis, que aumentem a eficiência de uso do nutriente pelas plantas e reduzam a quantidade de fertilizantes aplicados nos ambientes de produção.

Uma das alternativas para manutenção da produtividade do milho com redução no consumo de fertilizantes nitrogenados é a inoculação de sementes com bactérias diazotróficas, ou seja, que possuem a capacidade de fixação de N₂ atmosférico. No Brasil, *A. brasilense* é a

única espécie de bactéria registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que vem sendo pesquisada para a cultura do milho.

Diferente do que ocorre com leguminosas, em gramíneas não há formação de nódulos radiculares. As bactérias diazotróficas são atraídas por exsudatos liberados pelas raízes, e a aproximação é feita devido à afinidade quimiostática dos microrganismos pelos compostos produzidos pela planta, como mucilagem, aminoácidos, carboidratos, álcoois, vitaminas e hormônios (HAWES et al., 2000). Os microrganismos endofíticos exploram os possíveis locais de acesso aos tecidos internos da planta, como aberturas naturais ou ferimentos provocados por danos mecânicos. Algumas bactérias são capazes de modificar a parede celular vegetal por meio da secreção de enzimas celulolíticas como celulases, xilanases, pectinases e endoglucanases, facilitando sua entrada e disseminação dentro planta (KANDEL; JOUBERT; DOTY, 2017).

A inoculação da semente de milho vem ganhando importância pelo benefício que ela apresenta, reduzindo assim a quantidade de N sobre a semeadura e cobertura. Plantas inoculadas com *Azospirillum* tem a morfologia do sistema radicular alterada, aumentando o número de radículas, diâmetro médio das raízes laterais e adventícias, possibilitando uma maior exploração do volume do solo (DOBBELAERE; VANDERLEYDEN; OKON, 2003).

Marks et al. (2015) avaliando o efeito da inoculação por *A. brasilense* na cultura do milho, verificaram ganhos significativos no peso seco da parte aérea, N total acumulado e rendimento de grãos. Alves et al. (2014) inoculando cepas de *Herbaspirillum seropedicae* em campo, observaram um aumento de até 34% na produtividade, bem como, obtenção de 37% do N por fixação biológica.

Hungria (2011) relatou que vários trabalhos demonstraram que a utilização de *Azospirillum* promoveu efeitos em plantas de milho como: ganho de peso, aumento do conteúdo de N nas folhas, sementes, flores, início precoce do espigamento, aumento do número de espigas e número de grãos, maior altura da planta, maior área foliar e maior taxa de germinação.

Kotowski (2015) afirmou que há um aumento de produtividade com a presença de *A. brasilense*, mas que a inoculação sozinha não possui capacidade em atender toda a demanda de N disponível para a planta de milho, atuando apenas como um complemento para uma melhor absorção do N disponível. Segundo Muller et al. (2012), a inoculação do milho com *A. brasilense* possibilita uma redução significativa do uso de adubos industrializados, gerando uma diminuição de 20% nos custos de produção.

Estima-se que a utilização de inoculação de bactérias diazotróficas pelos produtores, poderá gerar uma economia de 1,2 bilhões de dólares por ano, utilizando apenas uma complementação de 50% do N-fertilizante para as culturas (HUNGRIA et al., 2010).

Nesse aspecto têm-se difundido no Brasil o uso de milho inoculado com bactérias promotoras de crescimento vegetal e fixadoras de N. No entanto, nesse manejo ainda é não possível substituir completamente o N mineral, sendo recomendável o uso de uma fração significativa do adubo mineral, variando entre 50 e 75% da dose recomendada de N para o milho.

2.3. O consorcio milho/feijão e a importância do N

O consorcio milho/feijão é um sistema de cultivo muito utilizado na agricultura familiar que usa pouco ou nenhum N como fertilizante mineral. Desse modo, o consórcio milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. pode ser uma alternativa para o agricultor familiar que pode se revelar interessante pelo beneficiando que terá do processo de FBN, além do feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. o N necessário para o cultivo de milho inoculado, porque o feijão-caupi é capaz de formar simbiose eficiente com rizóbios entre as fileiras de plantio. Essa prática pode contribuir de forma significativa para o aumento de N no sistema, podendo, até mesmo, permitir redução da fertilização com N (SANTOS et al., 2016).

As plantas leguminosas apresentam espécies importantes que podem ser cultivadas em consórcio com gramíneas. As gramíneas podem se beneficiar do N₂ fixado pela leguminosa, seja indiretamente por meio da deposição de nutrientes absorvidos do solo e depositados na camada superficial do solo após a decomposição da serapilheira, dos nódulos e das raízes, ou diretamente por meio da excreção de compostos nitrogenados pelas raízes (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016).

Muitos trabalhos têm tratado de estudar a transferência de N via deposição de material formador da serapilheira (BONETTI, 1991; BALIEIRO et al., 2004; ESPINDOLA et al., 2006; PAULINO et al., 2009; PAULA, 2015; SILVA, 2018; BARROS, 2019; BOURSCHEIDT et al., 2019). Por outro lado, pouco se tem estudado sobre a transferência direta de N de uma leguminosa para uma gramínea em um cultivo consorciado, por seus valores serem considerados baixos e muito variáveis, em torno de 10 kg ha⁻¹ de N (DIAS et al., 2007).

A FBN nas leguminosas pode contribuir para a auto-suficiência do N em sistemas de consórcio, porque parte do N fixado pela leguminosa pode ser transferida para a gramínea associada. Porém, os mecanismos de transferência de N neste consórcio não são totalmente conhecidos, havendo apenas evidências da transferência do N de raízes de leguminosas para a gramínea associada (CARLSSON; HUSS-DANELL, 2014). A transferência pode ocorrer de forma direta, pela absorção de produtos nitrogenados excretados pelas raízes, por fluxo de N

através de hifas de micorrizas e por reabsorção do N volatilizado ou lixiviado das folhas da leguminosa; ou indireta, pelos mecanismos de reciclagem no solo, senescência de raízes e nódulos (LOUARN et al., 2015).

Avaliando o desempenho do milho consorciado com feijão-de-corda em diferentes populações e arranjos de plantas no semiárido mineiro, Santos et al. (2016) observaram que os cultivos consorciados propiciaram maiores vantagens agronômicas do que os cultivos solteiros. Resultados similares foram encontrados por Hamd-Alla et al. (2014), que estudando os efeitos do consórcio de feijão-caupi com milho, observaram maior produtividade de grãos do milho em consórcio com feijão-caupi, quando comparado ao cultivo solteiro.

De acordo com Carvalho et al. (2019) os cultivos consorciados por vários ciclos podem trazer melhorias de produtividade para o milho. Além disso o consórcio é uma opção para o melhor aproveitamento da área, controle de plantas daninhas e conservação do solo.

Esse estudo propõe avaliar o crescimento, acúmulo de N, produção de matéria seca e produtividade do milho inoculado com *A. brasilense* consorciado com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. que é um potencial fixador biológico de N, a fim de que essa associação possa suprir o N ainda demandado pela cultura do milho inoculado, além de fornecer uma alternativa mais produtiva para o produtor que, em sua grande maioria, ainda planta o consórcio milho/feijão sem inoculação com bactérias.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Descrição da área experimental

O experimento foi conduzido de junho a setembro de 2019 em campo em área tradicionalmente cultivada com gramíneas para silagem na Fazenda Espinho Preto, no município de Passira – PE. O município está localizado no Agreste pernambucano, com altitude média de 178 m e coordenadas geográficas de 7°56'57,4"S e 35°30'59,9"W. O clima da região é do tipo Bs'h. Clima semiárido, muito quente, com chuvas no outono e inverno de acordo com a classificação climática de Köppen (ALVARES et al., 2013). O período de chuvas inicia-se em fevereiro/março e pode estender-se até agosto. Dados históricos de precipitação revelam média anual de 604,23 mm, com máximo de 1.035,60 mm e mínimo de 305,10 mm (BELTRÃO et al., 2005). As temperaturas variam, acompanhando a época das precipitações pluviométricas. A média anual fica em torno de 24 °C. A precipitação pluvial ocorrida durante o experimento foi de 486,7 mm e adicionalmente foram aplicados via irrigação 473,3 mm, totalizando 960 mm (Figura 1).

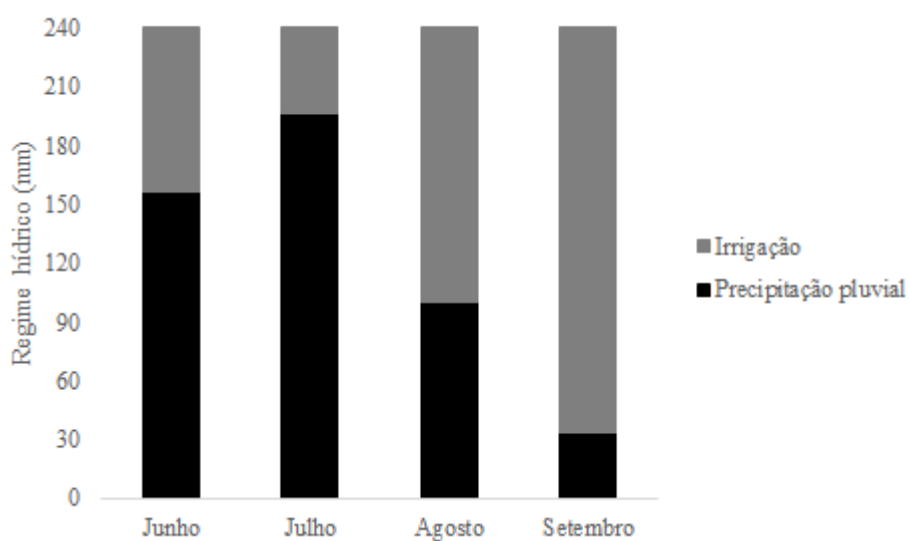


Figura 1. Volume de água precipitado na área experimental pelas chuvas (junho a setembro de 2019) e adicionado via irrigação, na Fazenda Espinho Preto, em Passira – PE

O solo do local do ensaio foi classificado como Neossolo Flúvico, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2018).

O solo da área experimental foi caracterizado química e fisicamente em camadas de 0 a 0,2 m de profundidade (Tabela 1). Para isso, foram coletadas aleatoriamente cinco amostras simples, que foram homogeneizadas e levadas a laboratório para as determinações. Quimicamente o solo foi caracterizado com a determinação do pH (H₂O), Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Al³⁺, P. O Ca²⁺, Mg²⁺ e Al³⁺ foram extraídos com KCl 1,0 mol L⁻¹ e dosados por titulometria. O P, K⁺, e Na⁺ foram extraídos com Mehlich-1, sendo o P dosado por espectrofotometria, o K⁺ e Na⁺ por fotometria de chama. Todas as análises foram realizadas conforme metodologias descritas pela EMBRAPA (2017).

A caracterização física do solo foi realizada com a determinação da composição granulométrica pelo método da pipeta, definindo sua classe textural. Todas as análises físicas foram realizadas de acordo com a metodologia proposta pela EMBRAPA (2017).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo nas profundidades de 0 a 0,2 m na área do ensaio de campo na Fazenda Espinho Preto, em Passira – PE

Atributo	Profundidade (m)
	0,0 – 0,2
pH _{água} (1:2,5)	6,50
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	3,40
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	3,20
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,81
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,28
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,00
(H+Al) (cmol _c dm ⁻³)	1,4
P (mg dm ⁻³)	278
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	56
Areia Fina (g kg ⁻¹)	515
Silte (g kg ⁻¹)	236
Argila (g kg ⁻¹)	194

3.2. Descrição do ensaio experimental

O milho utilizado foi o híbrido P3707VYH da DuPont Pioneer que apresenta um alto potencial produtivo, adaptação para plantio em diversas regiões e boas características agronômicas.

O experimento consistiu no cultivo do milho híbrido combinado com sua inoculação ou não com a bactéria *A. brasilense* e consorciado ou não com a variedade de feijão-caupi Miranda IPA 207, inoculado com *Rhizobium* sp., além da aplicação ou não de N. Desse modo, foram constituídos os seguintes tratamentos: Milho inoculado com *A. brasilense* + 50% da dose de N recomendada (Milho-Inoculado50); Milho inoculado com *A. brasilense* (Milho-Inoculado); Milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. (Milho-Inoculado-caupi); Milho sem inoculação + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. (Milho-caupi); Milho sem inoculação com 100% da dose de N recomendada (Testemunha-Nitrogenada); Milho sem inoculação e sem adubação nitrogenada (Testemunha-Absoluta). Foram utilizadas quatro repetições por tratamento, totalizando 24 parcelas, distribuídas casualmente em quatro blocos.

Cada parcela foi composta por seis linhas de 6 m de comprimento, espaçadas por um metro, totalizando 36 m². A área útil foi formada pelas quatro linhas centrais, descartando-se 0,5 metro das extremidades, totalizando 20 m². As duas linhas localizadas nas extremidades da

área útil foram utilizadas para realização das amostragens destrutivas ao longo do ciclo e as duas linhas centrais para as amostragens não destrutivas e para a avaliação de final de ciclo.

3.3. Implantação e condução do experimento

Após o período de 10 dias da aplicação do herbicida glifosato, para dessecação das plantas daninhas na área, o preparo do solo foi realizado com uso de grade aradora. Não foi necessário o uso de corretivos de acidez, pois o pH do solo estava em 6,5 na profundidade de 0,0 – 0,2 m (Tabela 1).

O semeio do milho ocorreu em covas de 0,05 m de profundidade, espaçadas em 0,2 m, distribuindo-se uma semente por cova. Nos consórcios as sementes foram distribuídas na mesma cova, que recebeu uma semente de milho e uma de feijão-caupi. A inoculação com *A. brasilense* foi realizada na noite anterior ao plantio, misturando o inoculante líquido às sementes de milho em saco de plástico até se obter uma total homogeneização da inoculação. A inoculação do feijão-caupi com *Rhizobium* sp. também foi realizada na noite anterior ao plantio, adicionando-se água destilada ao inoculante turfoso e misturado em saco de plástico com as sementes de feijão-caupi até se obter total homogeneização da inoculação.

Pela falta de informações na literatura sobre adubação em consórcio e diante da cultura do milho híbrido ser mais exigente do que o feijão-caupi, a adubação de base foi feita conforme recomendação de adubação para a cultura do milho irrigado, seguindo o Manual de Recomendação de Adubação para o Estado de Pernambuco (IPA, 2008).

No plantio, a adubação correspondeu a aplicação de 30, 20 e 20 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O respectivamente, no fundo da cova de plantio, além de 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura, tomando como base o Manual de Recomendação de Adubação para o Estado de Pernambuco (IPA, 2008). Todos os tratamentos receberam P e K distribuídos na cova de plantio, enquanto apenas dois tratamentos receberam N. No tratamento Milho-inoculado50, as doses foram de 15 kg ha⁻¹ de N no plantio e 30 kg ha⁻¹ de N em cobertura, enquanto a Testemunha-Nitrogenada recebeu 30 kg ha⁻¹ de N no plantio e 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura. As fontes utilizadas dos adubos foram, ureia no plantio e sulfato de amônio em cobertura, além do superfosfato simples e cloreto de potássio.

O sistema de irrigação adotado foi o gotejamento, com espaçamento entre linhas de 1,0 m e entre plantas de 0,2 m, com vazão média de 0,59 L h⁻¹ e pressão de serviço do gotejador (PS = 10 m.c.a). O tempo de irrigação (Ti) foi calculado de acordo com a máxima demanda evapotranspiratória do milho, levando-se em conta um Kc de 1,2 (SANTOS; FREIRE,

TRIVELIN, 2019) e $E_{To} = 6$ mm (ALLEN et al., 1998). O Ti foi de aproximadamente 3,0 horas.

Todos os tratamentos receberam a mesma lâmina de água. Quanto aos tratamentos culturais, foram realizadas quatro capinas manuais durante todo o ciclo de cultivo. Realizou-se, ainda, o monitoramento fitossanitário da cultura, não observando-se a presença de pragas ou doenças.

3.4. Avaliação de variáveis na planta

As avaliações foram realizadas aos 38, 47, 62, 75 e 90 dias após o plantio (DAP), visto que correspondem as fases do desenvolvimento da espécie, tais como, elevado crescimento, alto acúmulo de N, pendoamento, ponto de silagem e milho verde (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003).

As avaliações realizadas ao longo do período experimental foram:

- Monitoramento do crescimento vegetativo (altura da planta, diâmetro do colmo e área foliar);
- Determinação da produção da matéria seca na parte aérea e por compartimento da planta (folha, colmo e parte reprodutiva);
- Determinação do teor de N total nas folhas, raízes e grãos do milho;
- Estimativa do N acumulado na parte aérea e nos diferentes compartimentos (folha, colmo e parte reprodutiva);
- Avaliação biométrica da espiga (diâmetro da espiga com palha e sem palha, comprimento da espiga com palha e sem palha), além da produtividade da espiga sem palha.

3.4.1. Monitoramento do crescimento vegetativo e produção de matéria seca

Ao longo do período experimental foi avaliado aos 38, 47, 62, 75 e 90 DAP o crescimento das plantas. Foi mensurado o diâmetro do colmo, medido com uso de paquímetro digital (Diginess) no segundo entrenó, partindo da base. No estágio vegetativo a altura da planta foi realizada com o uso de uma trena, do solo até a bainha da última folha totalmente expandida e para o estágio reprodutivo a altura foi realizada do solo até o último nó, onde se inicia o pendão, adaptado de Paz et al. (2017). A estimativa da área foliar foi obtida através das medições do comprimento e da largura média da folha +1 (com uso de uma trena), de acordo com a seguinte fórmula (GUIMARÃES; SANS; MORAES, 2002): $\text{Área foliar} = 0,7458 * \text{Largura} * \text{Comprimento da folha}$

Aos 38, 47, 62, 75 e 90 DAP foram coletadas cinco plantas por parcela para estimativa da produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) nos diferentes compartimentos do milho. As plantas foram retiradas do solo com a raiz e separadas no laboratório em folhas, colmo e raízes, no estágio vegetativo e em folhas, colmo, parte reprodutiva (espiga completa e pendão) e raízes, no estágio reprodutivo, e tiveram suas massas registradas. O compartimento reprodutivo nesse experimento foi avaliado aos 62, 75 e 90 DAP. Os diferentes compartimentos foram triturados em forrageira separadamente. Posteriormente foram retiradas subamostras, pesadas, armazenadas em sacos de papel e colocadas em estufa com circulação forçada e ar a 65 °C, onde permaneceram até atingirem peso constante, para obtenção da matéria seca (BENINCASA, 2003).

3.4.2. Teor e acúmulo de N na MSPA e teor de N nas raízes e grãos

O teor de N foi determinado na MSPA nos diferentes compartimentos da planta (folha, colmo e parte reprodutiva) e raízes aos 38, 47, 62, 75, 90 DAP, bem como nos grãos aos 90 DAP.

As amostras secas foram trituradas em moinho do tipo Willey com facas e câmara de aço inoxidável e com peneiras de um mm de diâmetro. Posteriormente as subamostras foram pesadas com massa de 0,1 g para serem digeridas em solução sulfúrica e analisadas pelo método de Kjeldahl (EMBRAPA, 2017). O teor de N na parte aérea, nas raízes e nos grãos foi obtido através da digestão sulfúrica da subamostra seca e em seguida o extrato foi destilado em destilador Kjeldahl. A partir do produto do teor de N na biomassa e a MSPA foi obtida a quantidade acumulada de N na parte aérea nos diferentes compartimentos (folha, colmo e parte reprodutiva) para cada época de avaliação.

Não foi possível calcular acúmulo de N nas raízes de milho, pois como o experimento foi em campo, houve muita dificuldade para mensurar com exatidão a matéria seca deste órgão, obtendo-se apenas o teor de N nas raízes. Da mesma forma, não foi possível calcular o acúmulo de N nos grãos, porque o experimento foi colhido no ponto de forragem, onde toda a biomassa da parte aérea é triturada.

3.4.3. Taxa máxima de MSPA e acúmulo de N

Para a produção de MSPA e acúmulo de N foi determinado o período (dias) desde o plantio até a ocorrência da taxa máxima de produção de MSPA (Mg ha^{-1}) e da taxa máxima de acúmulo de N (kg ha^{-1}), bem como os respectivos valores dessas taxas máximas. Adicionalmente, também foram estimados o número de dias das diferentes fases de produção

de MSPA e acúmulo de N, bem como da taxa de produção de MSPA ($\text{kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) e taxa de acúmulo de N ($\text{kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$).

Para os dados que obtiveram ajuste sigmoidal, o ponto de inflexão correspondeu à época (dias) em que ocorreu a taxa máxima de produção MSPA e da taxa máxima de acúmulo de N. Os valores de taxa máxima de produção MSPA e da taxa máxima de acúmulo de N foram determinados pelo resultado obtido no ponto de inflexão menos o constatado no dia anterior (PARTELLI et al., 2014).

3.4.4. Avaliação biométrica e produtividade da espiga

Para a determinação da produtividade da espiga, comprimento e diâmetro das espigas com e sem palha foram coletas aleatoriamente 10 espigas de 10 diferentes plantas dentro de cada unidade experimental, dentro da área útil preservada para avaliação final.

3.4.4.1. Comprimento, diâmetro e produtividade da espiga com e sem palha

A produtividade das espigas sem palha foi obtida através do peso de 10 espigas de diferentes plantas coletadas aleatoriamente na parcela. Nessas espigas foram também realizadas todas as medições do comprimento (com fita métrica) e diâmetro (com paquímetro digital). Em seguida, retirou-se toda a palha das espigas e foram realizados os mesmos procedimentos anteriores. Os resultados do peso das 10 espigas foram relacionados com a população de 50.000 plantas ha^{-1} e expressos em Mg ha^{-1} .

3.4.5. Análise estatística

A altura da planta, o diâmetro do colmo, a área foliar, a MSPA, o teor e o acúmulo de N na parte aérea de milho foram avaliados considerando os tratamentos e o tempo, como medidas repetidas no tempo. Foi utilizado o pacote estatístico SAS Learning 2.0, seguindo o procedimento para modelo misto, selecionando-se o teste de covariância [AR(1), Ante (1), ARH (1), ARMA (1), CS, CSH, HF, TOEP, Lin (1), UN] que apresentou o menor valor do critério de Akaike (WOLFINGER; CHANG, 1995). Nas variáveis em que se observaram efeito significativo ($p < 0,05$) foi realizada análise de regressão em função do tempo, sendo selecionando o modelo que melhor representou o fenômeno, aquele com maior valor de coeficiente de determinação (R^2) e significância dos parâmetros até 10% pelo teste t.

Os dados do teor de N nas raízes e nos grãos de milho, comprimento, diâmetro e produtividade da espiga aos 90 DAP foram submetidos à análise da variância em função dos

tratamentos. Nas variáveis nas quais os tratamentos foram significativos (teste F, $p \leq 0,05$), aplicou-se o teste de comparação de médias de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Para os dados de produção de MSPA e acúmulo de N, além da regressão, foi realizado teste de médias de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) aos 90 DAP e contraste dos tratamentos inoculados versus sem inoculação e do tratamento Milho-Inoculado-consorciado versus milho adubado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Variáveis biométricas: altura da planta, diâmetro do colmo e Área foliar

Os dados de crescimento altura da planta, diâmetro do colmo e área foliar em função dos estádios de crescimento, ao longo do ciclo de cultivo do milho, se ajustaram ao modelo sigmoide de crescimento vegetal (Figura 2).

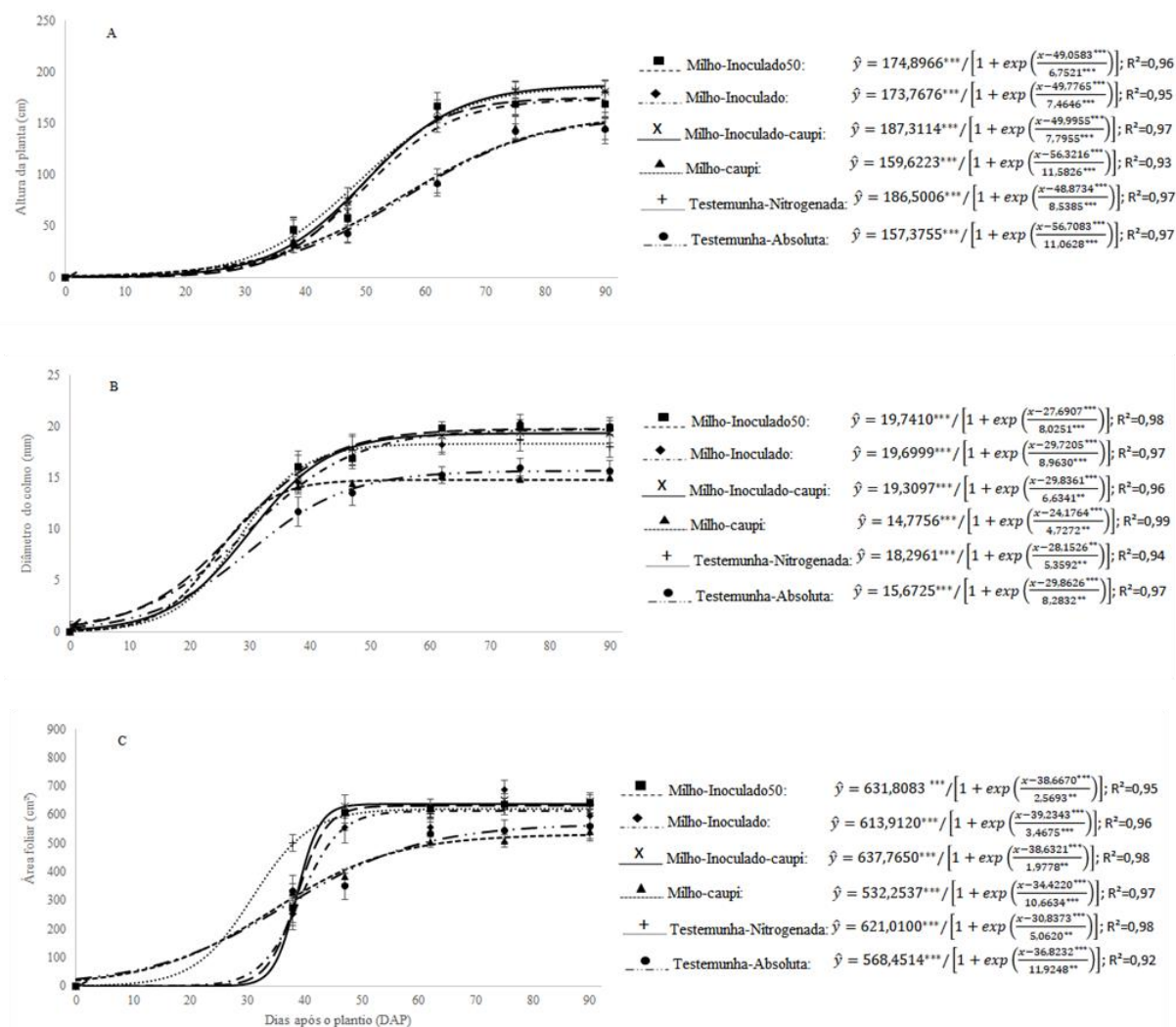


Figura 2. Altura da planta (A), diâmetro do colmo (B) e área foliar (C) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 38, 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP). ** e *** Significativo a 1 e 0,1% de probabilidade

De maneira geral, o crescimento das plantas foi maior nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense*, apresentando comportamento semelhante entre estes tratamentos durante o ciclo de cultivo, sendo observada altura máxima de 186,21 cm no tratamento Milho-inoculado-caupi (Figura 2A). No final do ciclo da cultura, em média, as plantas que receberam inoculação com *A. brasilense* tiveram um crescimento 10% maior do que as plantas que não foram inoculadas, independente da adubação (Figura 3A). Avaliando os consórcios, observou-se que a inoculação com *A. brasilense* promoveu um incremento de 23% na altura das plantas no consórcio Milho-Inoculado-caupi em relação ao consórcio Milho-caupi.

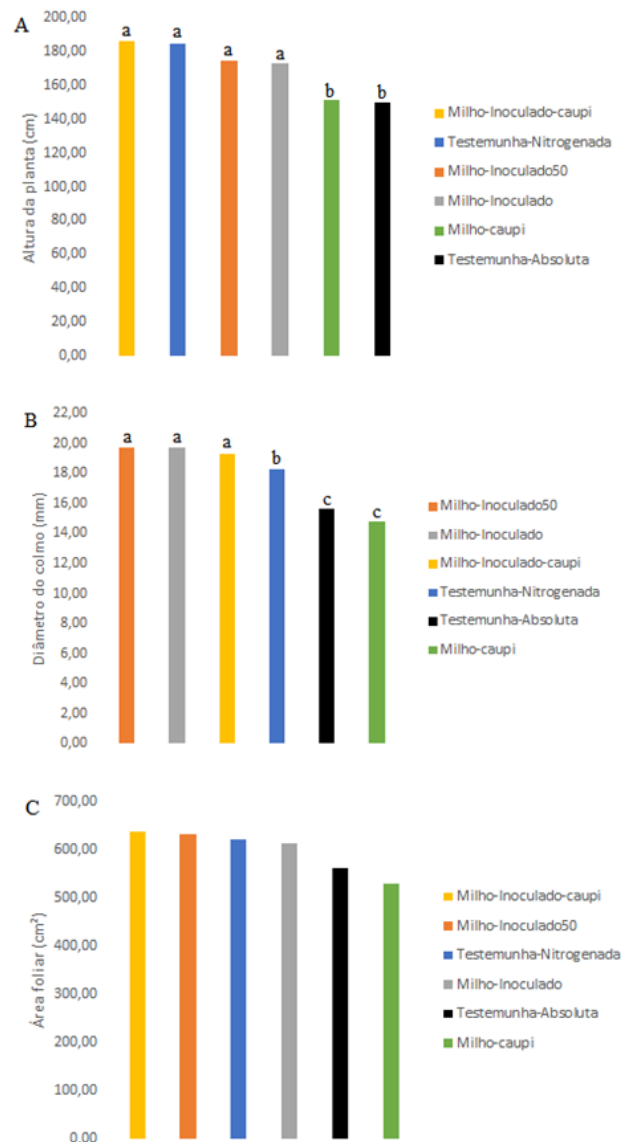


Figura 3. Altura da planta (A), diâmetro do colmo (B) e área foliar (C) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 90 dias após o plantio (DAP). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)

Respostas positivas também foram encontradas por Ramos et al. (2010), em estudo realizado com milho em casa de vegetação, os autores observaram que a altura das plantas foi maior quando o N foi aplicado na presença de *A. lipoferum*, em relação à aplicação de N na ausência da bactéria.

As plantas do consórcio Milho-inoculado-caupi apresentaram maiores alturas de plantas em relação aos cultivos solteiros com adubação mineral, porém não diferiram estatisticamente (Figura 3A). Portanto, o consórcio Milho-Inoculado-caupi apresentou crescimento de plantas semelhante aos tratamentos que receberam adubação de N mineral.

Respostas positivas no crescimento das plantas de milho consorciado com feijão-de-porco foram relatadas por Saldanha et al. (2017). Considerando a variável altura da planta, houve efeito significativo no consórcio de milho com feijão-de-porco em todos os estádios da cultura. Segundo os autores, a inclusão do feijão-de-porco no sistema de cultivo promoveu o incremento significativo no desenvolvimento do milho e quando correlacionado com a adubação de N mineral as diferenças foram ainda mais notáveis.

Santos et al. (2010) avaliaram o desempenho do milho sob plantio direto, com e sem a aplicação de N em cobertura, em sucessão a adubos verdes de verão: *Crotalaria juncea*, *Crotalaria spectabilis*, feijão-de-porco, milheto e vegetação espontânea em Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, e obtiveram maiores altura de plantas no tratamento realizado com feijão-de-porco. Resultados que corroboram os estudos anteriores foram encontrados por Castro e Prezotto (2008) que avaliando o desenvolvimento da cultura do milho em consórcio com adubação verde, em Latossolo Vermelho eutroférico, verificaram maiores valores de altura de plantas no milho quando consorciado com feijão-de-porco.

De modo geral, o diâmetro do colmo das plantas foi maior nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense*, semelhante ao que ocorreu com a altura das plantas. O diâmetro do colmo também apresentou comportamento semelhante entre estes tratamentos durante o ciclo de cultivo, sendo observado máximo diâmetro do colmo (19,73 mm) no tratamento Milho-Inoculado50 (Figura 2B). No final do ciclo da cultura, em média, os tratamentos que receberam inoculação com *A. brasilense* tiveram um incremento no diâmetro do colmo de 20,50% em relação aos tratamentos não inoculados. Semelhante ao que ocorreu com a altura da planta, o tratamento Milho-Inoculado-caupi apresentou valores de diâmetro do colmo semelhante aos tratamentos adubados com fertilizantes nitrogenados, não diferindo entre si (Figura 3A e B). Os efeitos da inoculação com *A. brasilense* no tratamento Milho-Inoculado-caupi promoveu um aumento de 30,65% no diâmetro do colmo em relação ao consórcio Milho-caupi. Esse aumento pôde contribuir para o incremento da produtividade, uma vez que no colmo são acumulados sólidos solúveis que poderão ser utilizados para a formação dos grãos (DARTORA et al., 2013).

Respostas que corroboram as encontradas nesse trabalho foram relatadas por Saldanha et al. (2017) estudando milho solteiro ou consorciado com feijão-de-porco na presença ou ausência de adubação mineral. Os autores observaram que o diâmetro do colmo das plantas de milho em consórcio com feijão-de-porco apresentou efeitos significativos em todos os estádios da cultura.

Por outro lado, Arantes et al. (2018) avaliando o crescimento, desenvolvimento e teor de clorofila do milho orgânico, inoculado com *A. brasilense*, sob diferentes adubações, encontraram os maiores valores de diâmetro do colmo nos tratamentos que receberam adubação mineral.

Assim, como ocorreu com a altura da planta e o diâmetro do colmo (Figuras 2A e B e 3A e B), os tratamentos que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense*, tiveram os maiores valores de área foliar, sendo observada resposta mais expressiva de 637,76 cm² no consórcio Milho-Inoculado-caupi (Figura 2C). No final do ciclo da cultura, em média, os tratamentos que receberam inoculação com *A. brasilense* tiveram um aumento de 10% de área foliar em relação aos tratamentos não inoculados (Figura 3C), não apresentando diferença estatística (Figura 3C).

De acordo com Dartora et al. (2013) esses maiores valores de área foliar com *A. brasilense* representa fator importante para a captação da energia luminosa, que serão convertidos em fotoassimilados e translocados para o enchimento dos grãos. Os efeitos da inoculação com *A. brasilense* aos 90 DAP promoveu no Milho-Inoculado-caupi um aumento de 20,47% de área foliar em relação ao consórcio Milho-caupi (Figura 3C). Esse incremento chegou a ser de 54,41% aos 47 DAP (Figura 2C), o que proporcionou maior crescimento e desenvolvimento da planta, devido a maior capacidade de assimilar CO₂ e sintetizar carboidratos durante a fotossíntese (FERNANDES et al., 2017). O incremento na área foliar pode estar associado com a produção de fitormônios pela bactéria promotora de crescimento como a auxina, giberilina e citocinina (DARTORA et al. 2013).

Respostas positivas no incremento da área foliar foram relatadas por Arantes et al. (2018) os autores observaram que a inoculação das sementes de milho com *A. brasilense* apresentou os maiores valores de área foliar, com avaliação no estágio reprodutivo. Resultados positivos também foram relatados por Veloso et al. (2009) quando observaram que o aumento da dose de N promoveu resposta linear na área foliar do híbrido simples Pioneer 30P70, mas não influenciou significativamente o índice de colheita.

Resultados semelhantes foram relatados por Dartora et al. (2013) em trabalho desenvolvido para avaliar o desenvolvimento e a produtividade do milho em resposta à inoculação com *A. brasilense* associada à adubação nitrogenada. Os autores verificaram que não houve efeito significativo da inoculação com bactérias diazotróficas nas fases vegetativas e reprodutivas e por Arantes et al. (2015) que avaliando os fatores de produção do milho consorciado com três leguminosas forrageiras, não observaram diferença significativa nas

variáveis área foliar total e área foliar média, indicando que não houve competição com o milho pelos fatores de produção.

Desse modo, a utilização do consórcio milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. não causou prejuízos pela competição para as plantas de milho, independente da inoculação ou adubação para as variáveis de crescimento, altura da planta, diâmetro do colmo e área foliar (Figura 3A, B e C), promovendo crescimento vegetal sem a necessidade da utilização de fertilizante nitrogenado, mostrando-se como uma alternativa mais sustentável e economicamente viável para manejo da cultura do milho, principalmente para o agricultor familiar, que devido ao alto custo, usa pouco ou nenhum fertilizante mineral. Nas condições experimentais estudadas, no consórcio Milho-Inoculado-caupi foi possível evitar o uso de 90 kg ha⁻¹ de N, o que daria 450 kg ha⁻¹ de sulfato de amônio como fertilizante mineral, além da utilização do feijão-caupi para complementação da alimentação humana e da biomassa fresca das plantas para melhoria proteica da silagem.

4.2. Acúmulo de matéria seca da parte aérea (MSPA)

Os dados de produção de MSPA em função dos estádios de crescimento ao longo do ciclo de cultivo do milho também se ajustaram ao modelo sigmoide de crescimento vegetal, sendo possível determinar três fases de desenvolvimento (Figura 4).

De maneira geral, as plantas que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense* conseguiram acumular mais matéria seca na parte aérea (Figura 4A), sendo observado resposta mais expressiva de 12,86 Mg ha⁻¹ na Testemunha-Nitrogenada aos 90 DAP, não diferindo dos tratamentos inoculados (Figura 4B). No final do ciclo da cultura, em média, as plantas que receberam inoculação com *A. brasilense* tiveram um incremento na MSPA de 22% em relação as plantas que não foram inoculadas, independente da adubação nitrogenada, apresentando efeito significativo (Figura 4C). Estes resultados corroboram aqueles constatados Reis Júnior et al. (2008), que também encontraram maior matéria seca na parte aérea de milho em função da inoculação com *A. amazonense*. Quadros et al. (2014) também observaram incremento de 4,8 Mg ha⁻¹ de matéria seca da parte aérea quando as plantas foram inoculadas com *Azospirillum* em relação ao tratamento controle.

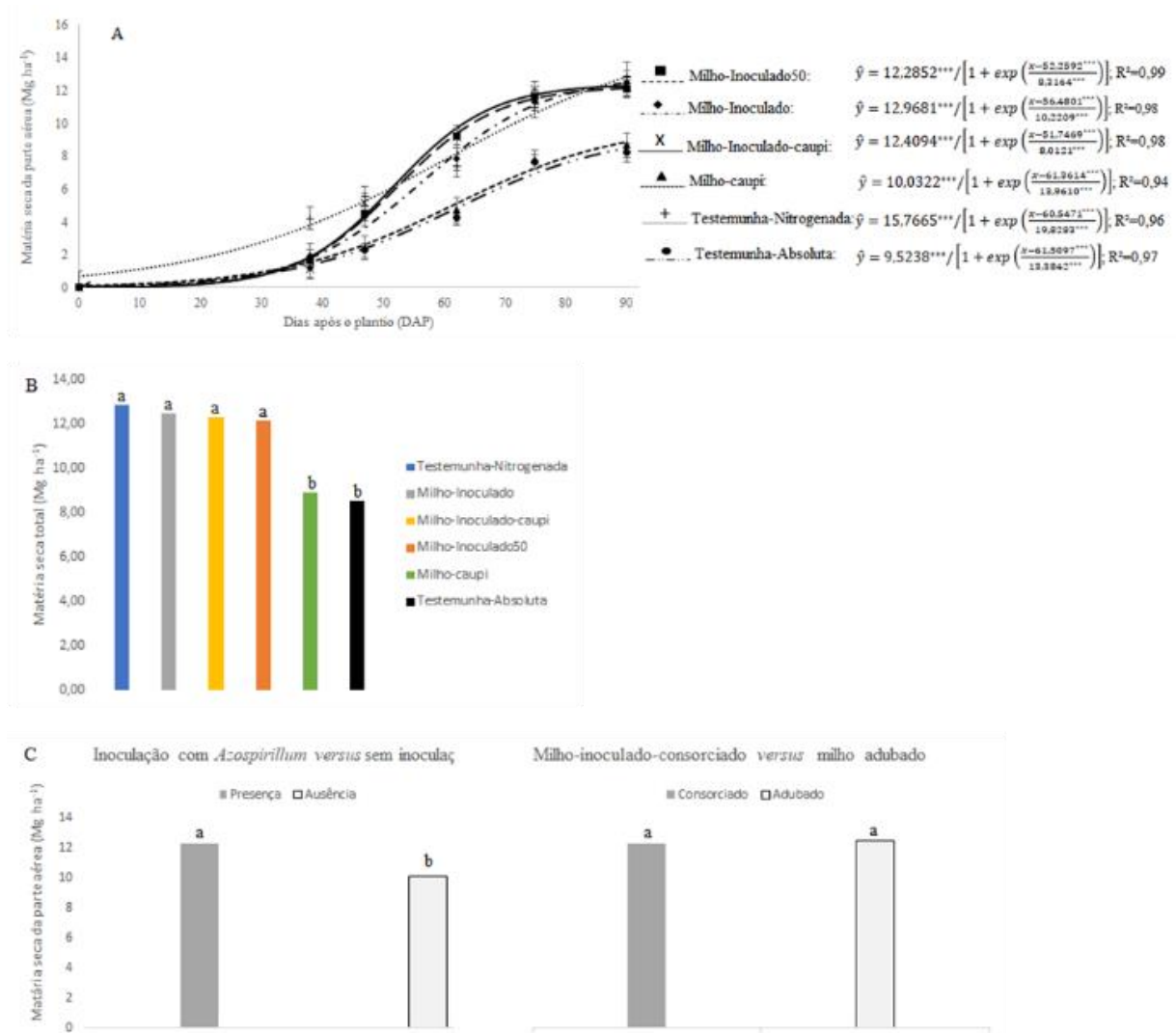


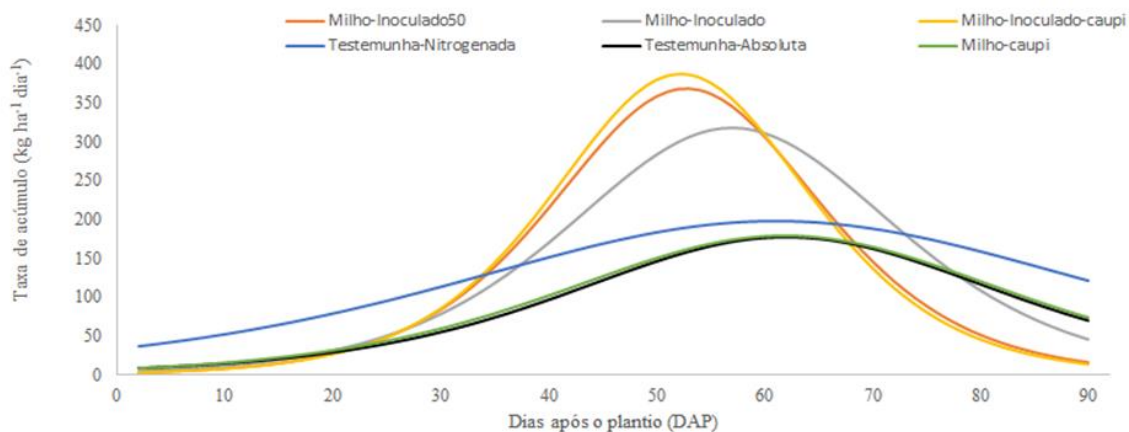
Figura 4. Matéria seca da parte aérea do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 38, 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP) (A); Teste de média entre os tratamentos aos 90 DAP (B); e contraste entre os tratamentos inoculados versus sem inoculação e Milho-Inoculado-consorciado versus milho adubado (C). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ***Significativo a 0,1% de probabilidade

Os efeitos da inoculação com *A. brasilense* nas plantas de milho no consórcio Milho-Inoculado-caupi promoveu um aumento de 38% de MSPA em relação ao consórcio Milho-caupi (Figura 4B). Ganhos de matéria seca pela inoculação com *A. brasilense* também foram relatados por Sabundjian et al. (2013), avaliando a fertilização nitrogenada em feijoeiro cultivado em sucessão ao milho consorciado com *Urochloa ruziziensis* na ausência e presença de *A. brasilense*. Os autores verificaram que o milho inoculado produziu em média 25% mais de matéria seca do que o tratamento sem inoculação. Esse aumento da MSPA com à inoculação

do *Azospirillum brasilense* são relacionados não só com o aumento do acúmulo de N, mas também com outros nutrientes, como o P solubilizado e a produção de fito-hormônios excretados pelo *Azospirillum*, desempenhando papel essencial na promoção do crescimento de plantas, principalmente do ácido indolacético (AIA) (BASHAN; HOLGUIN; DE-BASHAN, 2004).

Semelhante aos resultados encontrados com as variáveis de crescimento (Figura 2), as plantas do consórcio Milho-Inoculado-caupi não diferiram estatisticamente para o acúmulo de MSPA quando comparado com as plantas que receberam adubação nitrogenada (Figura 4C).

Na taxa de acúmulo de matéria seca, a primeira fase de crescimento foi caracterizada pela baixa produção de biomassa que, em média, foi de ~13% da massa total (Figura 5). Nas plantas inoculadas com *A. brasilense*, esta fase finalizou em média aos 36 DAP, enquanto na ausência de inoculação, o acúmulo inicial de massa seca ocorreu até os 30 DAP. O efeito da adubação na Testemunha-Nitrogenada, antecipou o início da segunda fase de crescimento em seis dias. Entretanto, nesta fase, o efeito da inoculação elevou a produção de matéria seca no consórcio Milho-Inoculado-caupi em 23% em relação ao consórcio não inoculado com *A. brasilense*. Similarmente, a inoculação elevou a produção de matéria seca no tratamento Milho-Inoculado em 36% em relação a Testemunha-Absoluta (Figura 5). De acordo com Westgate et al. (1997) esta aceleração no crescimento inicial nas plantas de milho é uma característica importante em regiões de alta latitude, nas quais a duração da estação de crescimento é reduzida. Nestes casos, cultivares que apresentem rápido desenvolvimento de área foliar interceptam e utilizam a radiação solar de forma mais efetiva, convertendo isto em maiores produtividades. Por outro lado, Almeida et al. (2003) avaliando o crescimento inicial de milho e sua relação com o rendimento de grãos, em regiões subtropicais e tropicais, verificaram que a maior velocidade de crescimento inicial de híbridos de milho não proporcionou incremento no rendimento de grãos, possivelmente porque a cultura teve tempo suficiente para compensar as diferenças existentes nas fases iniciais em etapas subsequentes do ciclo da cultura.



Tratamento	1ª fase			2ª fase			3ª fase			dias	TMAC kg ha ⁻¹ dia ⁻¹	AT kg ha ⁻¹
	Período	AR kg ha ⁻¹	%	Período	AR kg ha ⁻¹	%	Período	AR kg ha ⁻¹	%			
Milho-Inoculado50	0 - 36	1,46	12,05	37 - 69	9,36	76,97	70 - 90	1,33	10,98	52	368,43	12,16
Milho-Inoculado	0 - 36	1,55	12,37	37 - 77	9,88	79,03	78 - 90	1,08	8,60	56	316,40	12,50
Milho-Inoculado-caupi	0 - 36	1,48	12,02	37 - 68	9,45	76,80	69 - 90	1,38	11,18	52	386,99	12,31
Milho-caupi	0 - 33	1,20	13,45	34 - 89	7,64	85,95	90 - 90	0,05	0,60	61	179,46	8,89
Testemunha-Nitrogenada	0 - 21	1,88	14,62	22 - 100	10,98	93,40	101 -	-	-	61	198,78	12,86
Testemunha-Absoluta	0 - 35	1,14	13,34	36 - 88	7,25	85,22	89 - 90	0,12	1,44	62	177,87	8,51
Média	-	1,45	12,97	-	9,09	82,90	-	0,79	6,56	-	271,32	11,20

Figura 5. Período (DAP), acúmulo relativo (AR) (Mg ha⁻¹), taxa máxima de acúmulo (TMAC) e acúmulo total (AT) de matéria seca da parte aérea nas fases de desenvolvimento do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp

Na segunda fase de crescimento foram observados os maiores acúmulos de matéria seca. Em média, 83% da biomassa total produzida, tendo se finalizado, em média, aos 72 e 92 DAP, respectivamente nas plantas inoculadas com *A. brasilense* e não inoculadas (Figura 5). Nas plantas que receberam inoculação com *A. brasilense* o período de duração da segunda fase foi antecipado, perdurando, em média, por 35 dias para a plantas inoculadas e 62 dias para as não inoculadas (Figura 5). Nesta fase, a inoculação promoveu, em média, um incremento de 11% de MSPA nas plantas que receberam inoculação.

O período de duração da segunda fase no Milho-Inoculado-caupi foi antecipado pela inoculação, quando comparado com o consórcio não inoculado, perdurando por 31 e 55 dias, respectivamente, na presença e ausência do *A. brasilense*. Nesta fase, a produção de MSPA foi 24% maior com a inoculação, quando comparado os consórcios, tendo sua taxa máxima de acúmulo de 386,99 kg ha⁻¹ dia⁻¹ no consórcio Milho-Inoculado-caupi.

Assim, como observou-se que o tempo de duração da segunda fase foi reduzido pela inoculação com *A. brasilense*, observou-se também que as plantas inoculadas tiveram picos de produção de MSPA (Figura 5), sendo sua taxa máxima de acúmulo de matéria seca, em média, de 357,27 kg ha⁻¹ dia⁻¹, enquanto as plantas não inoculadas tiveram uma taxa de acúmulo menor

durante o ciclo, sendo a taxa máxima, em média, de 185,37 kg ha⁻¹ dia⁻¹ (Figura 5). As plantas inoculadas tiveram um elevado acúmulo inicial, possivelmente, devido aos diversos fatores de promoção de crescimento proporcionado pelas bactérias, como os mencionados por Hungria et al. (2011), utilizando N e hormônios para o rápido desenvolvimento, acumulando muita matéria seca, atingindo altos picos de acúmulo (Figura 5). Porém, provavelmente, as bactérias entraram na fase de senescência e perderam atividade. Este fato fica mais claro no consórcio Milho-Inoculado-caupi, em que as plantas tiveram valores de crescimento (Figura 1) e acúmulo de matéria seca semelhantes ao da Testemunha-Nitrogenada (Figura 4B).

A terceira fase de crescimento apresentou valores de acúmulo de matéria seca próximos da metade dos observados na primeira fase, correspondendo, em média, a 6,56% da biomassa total produzida, sendo, desse modo, o menor período de produção (Figura 5). Nos tratamentos que não receberam inoculação com *A. brasilense* observou-se que a duração da fase ultrapassou os 60 DAP, indicando que no momento de colheita estas plantas ainda estavam acumulando matéria seca, visto que nesta fase, em média, os tratamentos acumularam apenas 85 g ha⁻¹ dia⁻¹, correspondendo, em média, apenas a 6,7% do que os tratamentos inoculados acumularam (1263 g ha⁻¹ dia⁻¹).

Desse modo, os tratamentos não inoculados, tinham acabado de iniciar a terceira fase e a Testemunha-Nitrogenada não havia iniciado a terceira fase, uma vez que a equação não representou a estabilização da produção (Figura 5). Durante o ciclo de produção das plantas não inoculadas, a segunda fase de produção de matéria seca foi mais longa, totalizando 55 dias para o Milho-caupi; 52 dias para a Testemunha-Absoluta e não sendo possível determinar o tempo da Testemunha-Nitrogenada, pois quando as plantas foram colhidas aos 90 DAP não tinha ainda terminado a segunda fase. Deste modo, o acúmulo de biomassa na segunda fase da Testemunha-Nitrogenada pode não ter sido totalmente exato e não sendo possível determinar com exatidão a terceira fase, sendo necessária a avaliação por mais tempo.

Na última fase de crescimento as espigas podem ser colhidas para serem comercializadas como milho verde, o que de acordo com Ritchie, Hanway e Benson (2003) ocorre entre 85 a 95 DAP. Desta forma, o período indicado como estágio R3 por esses autores foi semelhante ao observado nesse trabalho.

Desse modo, o maior número de dias observados na segunda e terceira fase de acúmulo de MSPA nos tratamentos inoculados com *A. brasilense*, se deve ao aumento da velocidade de acúmulo de biomassa ocorrido nas duas primeiras fases, ou seja, maior acúmulo em menor tempo, levando a estabilização precoce da produção.

4.3. Acúmulo de matéria seca nos componentes da parte aérea

Os dados de produção de matéria seca das folhas e do colmo em função dos estádios de crescimento, ao longo do ciclo de cultivo do milho, se ajustaram ao modelo sigmoide de crescimento vegetal (Figura 6).

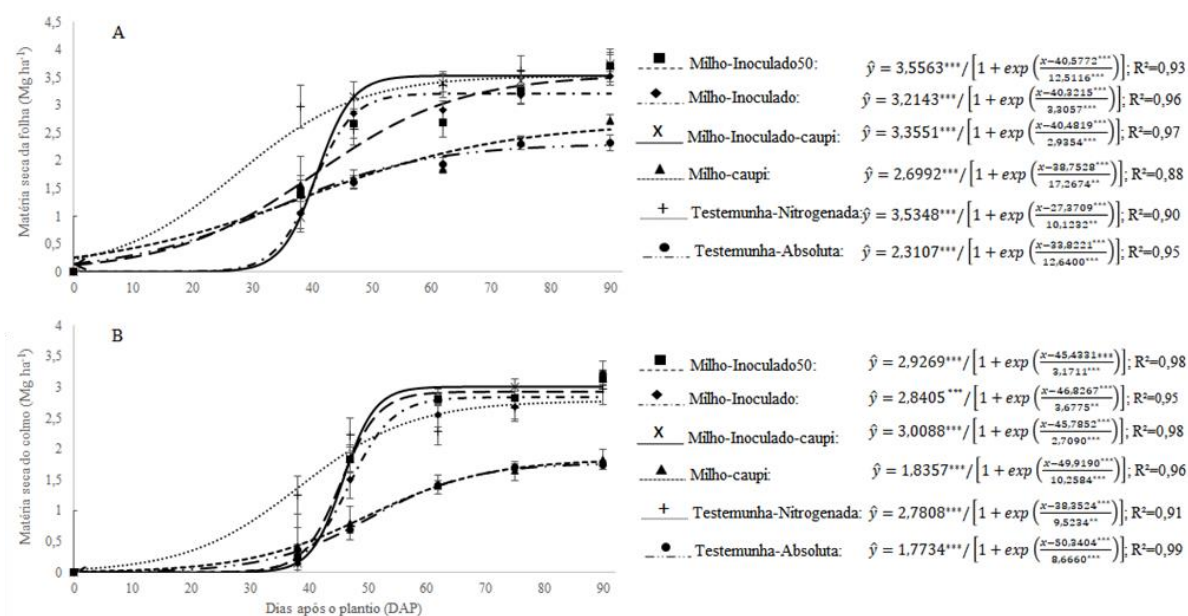


Figura 6. Matéria seca da folha (A) e do colmo (B) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 38, 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP). ** e *** Significativo a 1 e 0,1% de probabilidade

De modo geral, o acúmulo de matéria seca nas folhas e no colmo apresentaram comportamento similar ao longo do ciclo de cultivo do milho, sendo pequeno no início do desenvolvimento da cultura, com valores mais expressivos observados na Testemunha-Nitrogenada que foi aos 38 DAP de 2,62 e 1,36 Mg ha⁻¹ de matéria seca na folha e no colmo, respectivamente (Figura 6A e B). Esse maior crescimento inicial da Testemunha-Nitrogenada se deu pela imediata disponibilidade do N proporcionado pela adubação mineral, adicionando o nutriente prontamente disponível no solo, pois o N é um dos nutrientes que apresentam os efeitos mais expressivos no aumento do crescimento vegetativo (TAIZ; ZEIGER, 2017). Em média, dos 38 aos 48 DAP houve um incremento no acúmulo de matéria seca de 64 e 204% na folha e no colmo, respectivamente.

Resultados que corroboram estes foram encontrados por Pinho et al. (2009), que estudando a marcha de absorção de macronutrientes e acúmulo de matéria seca na parte aérea de milho em função dos estádios fenológicos da cultura, observaram que o acúmulo de matéria seca nas folhas foi pequeno no início do desenvolvimento da cultura (70,24 kg ha⁻¹), ocorrendo

um incremento crescente no acúmulo de matéria seca nas folhas até o início do enchimento de grãos, quando o acúmulo máximo foi de 5,66 Mg ha⁻¹. Em relação a matéria seca de colmo os mesmos autores observaram comportamento similar, onde a matéria seca no colmo também foi muito baixo nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura (207,79 kg ha⁻¹); e a medida que a planta foi crescendo houve incremento significativo na matéria seca acumulada nos colmos das plantas de milho, que se estendeu até o fim do ciclo. A máxima acumulação de matéria seca no fim do ciclo foi de 6,96 Mg ha⁻¹.

De maneira geral, o acúmulo de matéria seca na folha e no colmo foi maior nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense*, semelhante ao que ocorreu com as variáveis de crescimento (Figura 2), sendo observado acúmulo mais expressivo no tratamento Milho-Inoculado-caupi de 3,54 e 3,01 Mg ha⁻¹ de matéria seca na folha e no colmo, respectivamente (Figura 6A e B). No final do ciclo da cultura, em média, a inoculação com *A. brasilense* promoveu um incremento de 23 e 39% no acúmulo de matéria seca na folha e no colmo, respectivamente. Os efeitos da inoculação com *A. brasilense* no consórcio Milho-Inoculado-caupi promoveu um aumento em relação ao consórcio Milho-caupi de 38 e 67% no acúmulo de matéria seca na folha e no colmo, respectivamente. Isso ressaltou os benefícios da promoção de crescimento do *A. brasilense* em associação com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. na cultura do milho.

Respostas que corroboram estas foram relatadas por Quadros et al. (2014) avaliando o desempenho agrônomo de três híbridos de milho inoculados com uma mistura de três espécies de *Azospirillum*. Os autores observaram incremento de 4,8 Mg ha⁻¹ de matéria seca da folha e do colmo, em relação ao tratamento controle. Reis Júnior et al. (2008) também relataram um incremento na matéria seca das plantas de milho inoculadas com *Azospirillum*. De acordo com Bashan, Holguin e De-Bashan (2004) os fito-hormônios, principalmente o AIA, excretado pelo *Azospirillum*, desempenham papel essencial na promoção do crescimento de plantas.

4.4. Acúmulo de N na parte aérea

Os dados de extração de N em função dos estádios de crescimento, ao longo do ciclo de cultivo do milho, também se ajustaram ao modelo sigmoide de crescimento vegetal, sendo possível determinar três fases de desenvolvimento (Figura 7).

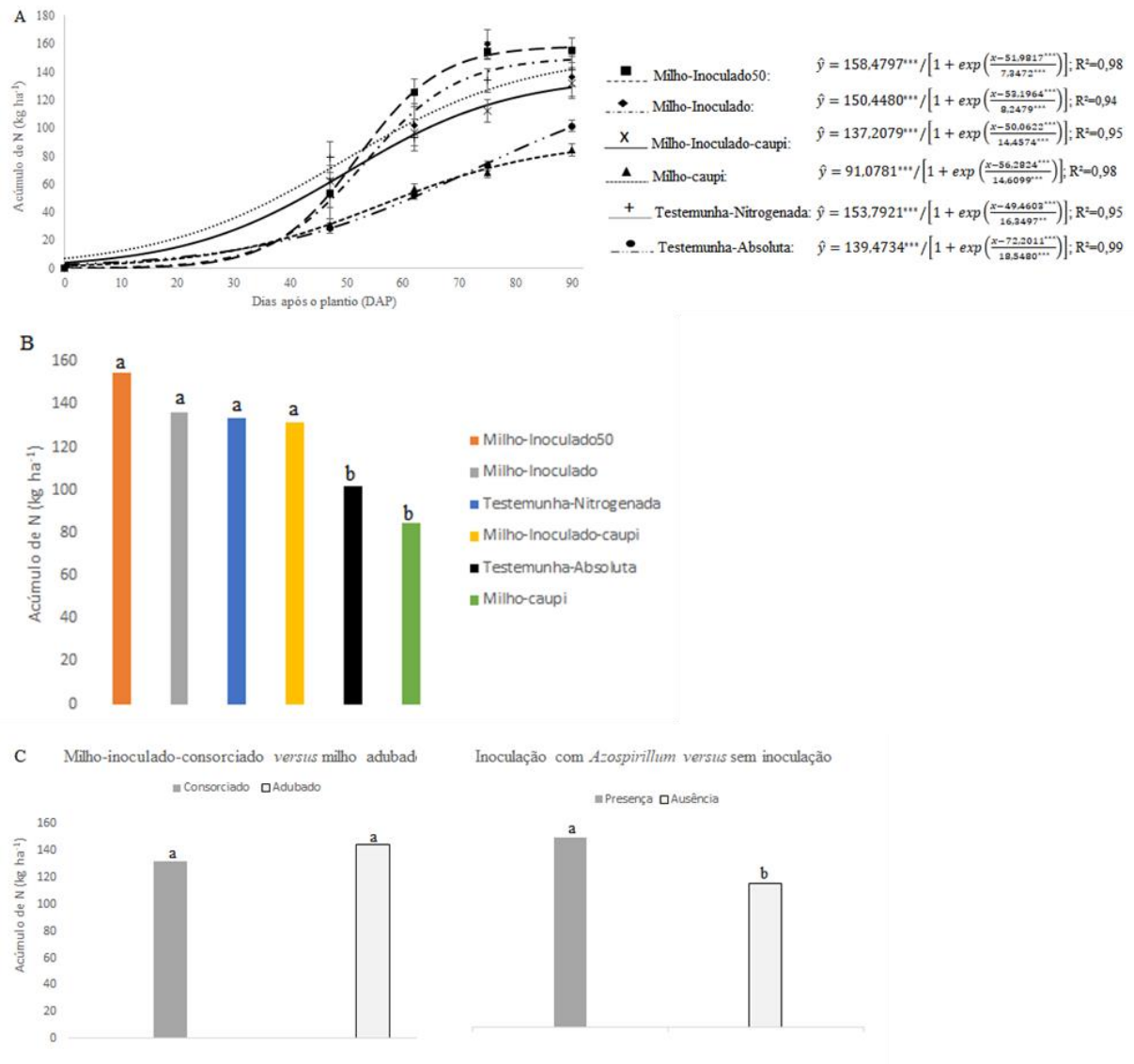


Figura 7. Acúmulo de N na parte aérea do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 38, 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP) (A); Teste de média entre os tratamentos aos 90 DAP (B); e contraste entre os tratamentos Milho-Inoculado-consorciado versus milho adubado e inoculados versus sem inoculação (C). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). ***Significativo a 0,1% de probabilidade

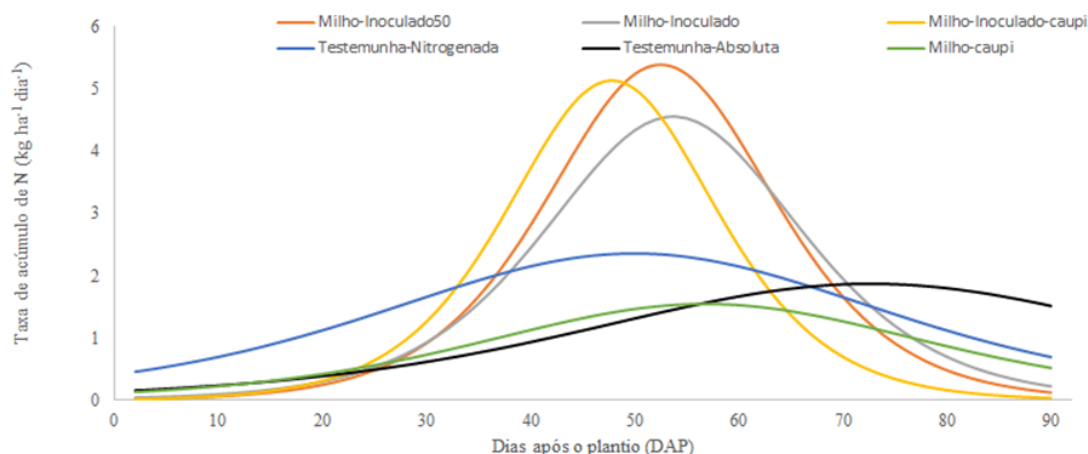
De maneira geral, as plantas que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense* conseguiram acumular mais N (Figura 7), sendo observado resposta mais expressiva de 154,9 kg ha⁻¹ no tratamento Milho-Inoculado-50 (Figura 7A). No final do ciclo da cultura, em média, as plantas que receberam inoculação com *A. brasilense* acumularam 32% mais N em relação as plantas que não foram inoculadas (Figura 7B), independente da adubação nitrogenada, apresentando efeito significativo (Figura 7C).

Os efeitos da inoculação com *A. brasilense* nas plantas de milho no consórcio Milho-Inoculado-caupi foi significativo, promovendo um aumento no acúmulo de N de 56% em relação ao consórcio Milho-caupi (Figura 7B).

Semelhante aos resultados encontrados com as variáveis de crescimento (Figura 2) e a MSPA (Figura 5B), as plantas de milho no tratamento Milho-Inoculado-caupi não apresentaram diferença significativa para o acúmulo de N quando comparado com as plantas que receberam adubação nitrogenada (Figura 7B).

Quando estudou-se a taxa de acúmulo de N e as diferentes fases de acumulação de N pelas plantas de milho, observou-se que a primeira fase do acúmulo de N foi caracterizada por baixos valores, representando 13% do N total absorvido em todo o ciclo (Figura 8), tendo ocorrido o maior período até 37 DAP no Milho-Inoculado50/Milho-Inoculado e o menor 17 DAP com Testemunha-Nitrogenada, indicando que as plantas inoculadas com *A. brasilense* precisaram de mais tempo para completar a primeira fase (Figura 8). No consórcio Milho-Inoculado-caupi, a inoculação com *A. brasilense* aumentou o tempo de duração da primeira fase, em relação ao consórcio Milho-caupi, porém, apesar dessa redução na duração da primeira fase, a inoculação com *A. brasilense* promoveu um aumento de 52% na extração de N.

Na segunda fase foram encontrados os maiores acúmulos de N, cerca de 78,6% do total absorvido pela cultura, com duração média nos tratamentos inoculados e não inoculados com *A. brasilense* de 29 e 57 dias, respectivamente (Figura 8). De modo inverso ao observado na primeira fase, a segunda fase de acúmulo de N nos tratamentos inoculados com *A. brasilense* foi reduzida, indicando que nesta fase as bactérias influenciaram o período e a extração de N, possivelmente devido ao maior pico da taxa de acúmulo de N, ocorrido nos tratamentos que receberam inoculação com *A. brasilense* (Figura 8). Ainda nesta fase, observou-se que a inoculação promoveu um aumento no acúmulo de N de 30%, quando comparado com as plantas não inoculadas, independente da adubação. O acúmulo de N no consórcio Milho-Inoculado-caupi foi 52% maior em relação ao consórcio Milho-caupi.



Tratamento	1ª fase			2ª fase			3ª fase			TMAC kg ha ⁻¹ dia ⁻¹	AT kg ha ⁻¹	
	Período	AR kg ha ⁻¹	%	Período	AR kg ha ⁻¹	%	Período	AR kg ha ⁻¹	%			dias
Milho-Inoculado50	0 - 37	18,89	11,99	38 - 67	120,70	76,59	68 - 90	18,00	11,42	52	5,38	157,59
Milho-Inoculado	0 - 37	17,93	12,06	38 - 70	114,58	77,04	71 - 90	16,22	10,90	54	4,56	148,73
Milho-Inoculado-caupi	0 - 34	16,47	11,94	35 - 61	105,22	76,29	62 - 90	16,23	11,77	48	5,14	137,92
Milho-caupi	0 - 27	10,86	13,11	28 - 86	69,36	83,74	87 - 90	2,62	3,16	57	1,56	82,84
Testemunha-Nitrogenada	0 - 17	18,33	12,92	18 - 82	117,13	82,54	82 - 90	6,44	4,54	50	2,35	141,90
Testemunha-Absoluta	0 - 35	16,63	16,49	36 - 85	76,26	75,62	86 - 90	7,96	7,89	73	1,88	100,85
Média	-	16,52	13,08	-	100,54	78,64	-	11,24	8,28	-	3,48	128,30

Figura 8. Período (DAP), acúmulo relativo (AR) (Mg ha⁻¹), taxa máxima de acúmulo (TMAC) e acúmulo total (AT) de N na parte aérea nas fases de desenvolvimento do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp

A terceira fase de acúmulo de N foi iniciada, em média, nos tratamentos inoculados e não inoculados com *A. brasilense* aos 67 e 84 DAP, respectivamente. Isso representou 8,28% do N total absorvido (Figura 8). O tempo de duração da terceira fase nas plantas que não receberam inoculação foram, em média, de apenas cinco dias, indicando que as plantas que não receberam inoculação não conseguiram encerrar a terceira fase até o momento da colheita, aos 90 DAP e precisariam de mais tempo para serem avaliadas. Esse retardamento possivelmente ocorreu pela forma de extração do N, que diferente das plantas inoculadas, não tiveram altos picos, sendo uma extração mais constante ao longo do ciclo (Figura 8).

De modo inverso, as plantas que foram inoculadas tiveram uma maior precocidade, provavelmente devido ao elevado pico de acúmulo de N na segunda fase (Figura 8), o que proporcionou terem mais tempo na terceira fase de assimilar N até o momento da colheita. Desse modo as plantas inoculadas, em média, absorveram 2,8 vezes (182%) mais N do que as plantas não inoculadas na terceira fase, ou seja, a inoculação potencializou a assimilação de N, levando ao mais rápido suprimento de suas exigências.

O aumento e/ou antecipação do acúmulo de N nas plantas de milho devido à inoculação com *A. brasilense* está ligado aos efeitos das bactérias na promoção de crescimento em plantas

de milho, como a FBN associativa, a produção de fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes, como o AIA, giberilinas e citocininas (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015). Além da promoção de crescimento promovido pelos hormônios, com o maior crescimento radicular as plantas conseguem explorar mais aéreas ao seu redor, expandindo a rizosfera e tendo acesso a mais nutrientes e água. Desse modo, esses resultados comprovaram a importância da adoção da prática de inoculação com *A. brasilense* para o aumento da absorção de N pelas plantas de milho.

4.5. Teor de N nas folhas e nas raízes

Os dados dos teores de N nas folhas em função dos estádios de crescimento do milho, se ajustaram a modelo quadrático, possibilitando observar que o teor de N, em média, aumentou até os 70 DAP e, posteriormente reduziu (Figura 9A).

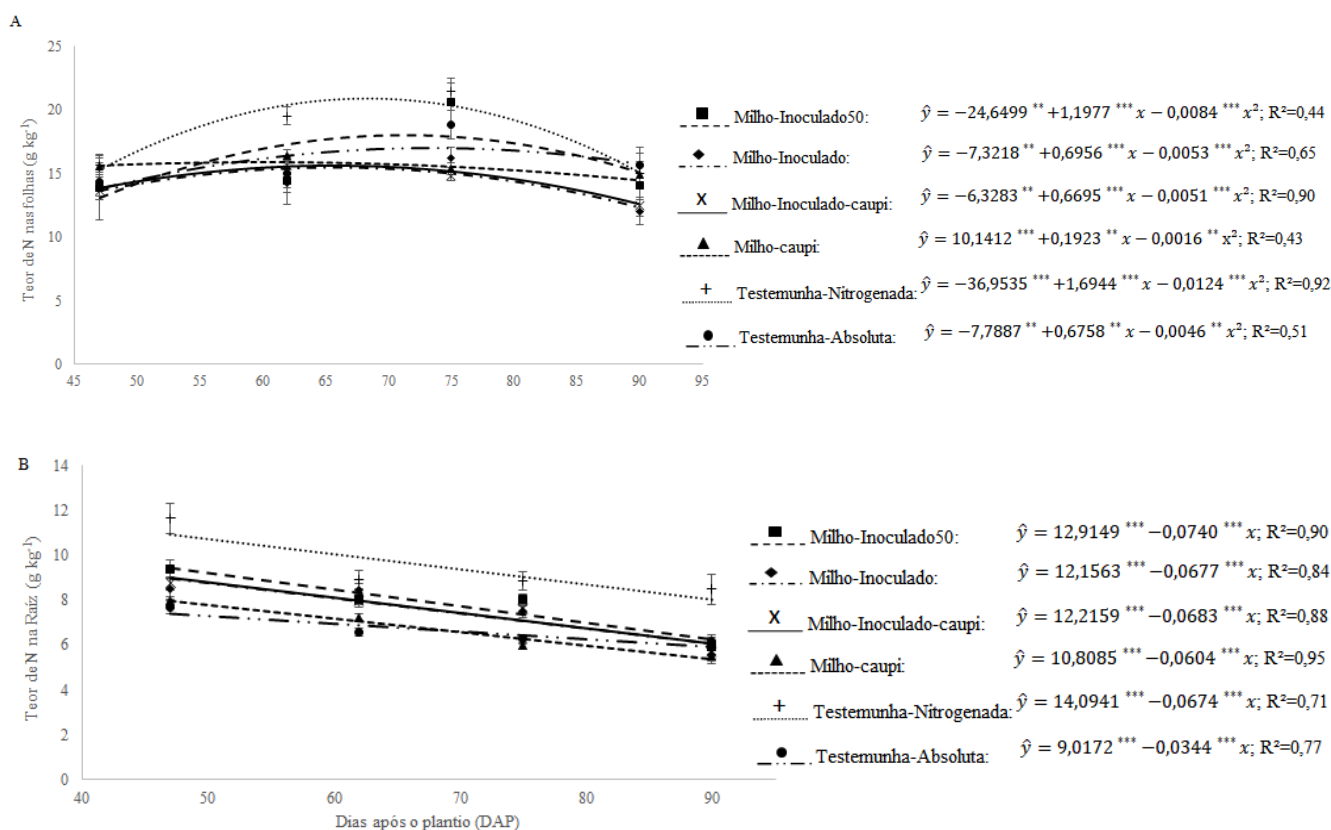


Figura 9. Teor de N nas folhas (A) e nas raízes (B) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 47, 62, 75, 90 dias após o plantio (DAP). ** e *** Significativo a 10 e 1% de probabilidade (teste t)

Nos primeiros meses de desenvolvimento do milho, ocorreu baixa produção de matéria seca das folhas e posteriormente uma elevado crescimento e produção de matéria seca (Figura 6A), o que deve ter ocasionado o aumento e depois a diminuição do teor de N por um efeito de

diluição, que posteriormente concentra-se com a diminuição da biomassa foliar. Quando se inicia a fase de maior acúmulo de biomassa, em média, aos 57 DAP, acontece também o maior acúmulo de N (Figura 5 e 8). Dessa forma, há um aumento do teor de N na matéria seca das folhas.

O comportamento do teor de N na matéria seca das folhas em função dos estádios de crescimento do milho foi distinto nos tratamentos que receberam inoculação com *A. brasilense* (Figura 9A). Em média, quando comparado os tratamentos que receberam inoculação com os que não receberam, os teores de N foram superiores nos tratamentos inoculados com *A. brasilense* durante todo o ciclo.

As plantas inoculadas com *Azospirillum* tem a morfologia do sistema radicular alterada, aumentando o número de radículas, diâmetro médio das raízes laterais e adventícias, possibilitando uma maior exploração do volume do solo e conseqüentemente maior absorção de nutrientes, incluindo N (DOBBELAERE; VANDERLEYDEN; OKON, 2003).

Os dados do teor de N nas raízes em função dos estádios de crescimento, ao longo do ciclo de cultivo de milho, se ajustaram ao modelo linear decrescente (Figuras 9B).

Observa-se maior teor de N nas raízes na Testemunha-Nitrogenada, resultado semelhante ao observado com os teores de N nas folhas (Figura 9A). Esse maior teor de N na Testemunha-Nitrogenada, possivelmente se deu pela maior oferta de N no solo, como consequência da fertilização nitrogenada.

Respostas positivas no incremento de N nas raízes e nas folhas que corroboram aos encontrados neste estudo foram observadas por Lin et al. (2019) trabalhando com bactérias promotoras de crescimento em milho. Os autores observaram que as plantas que receberam 75% da dose total de N tiveram uma concentração maior de N nas raízes, caule e folhas em comparação com 25% da dose recomendada de N e o controle não fertilizado. Os tratamentos com dose de 50% de N também aumentaram significativamente as concentrações de N nos tecidos das plantas em comparação com o controle não fertilizado.

É possível observar uma diminuição do teor de N nas folhas e nas raízes (Figura 9A e B), essa diminuição dos teores de alguns nutrientes, como o caso do N, de determinados componentes da planta para outros componentes é conhecido como translocação, como por exemplo das raízes para as folhas e destas para as estruturas reprodutivas, que passa a se comportar como dreno. Isso é mais evidente com elementos móveis na planta, como o N, principalmente nas épocas de enchimento e maturação das espigas (TAIZ; ZEIGER, 2017).

4.6. Teor de N nos grãos

Não houve efeito significativo para o teor de N nos grãos de milho verde aos 90 DAP (Figura 10), possivelmente devido ao efeito de diluição, que é um efeito caracterizado quando a taxa de crescimento relativo de matéria seca é superior à taxa de absorção relativa do nutriente. Desse modo os tratamentos que tiveram menor biomassa concentraram mais N, enquanto nos tratamentos que tiveram maior biomassa o N foi diluído.

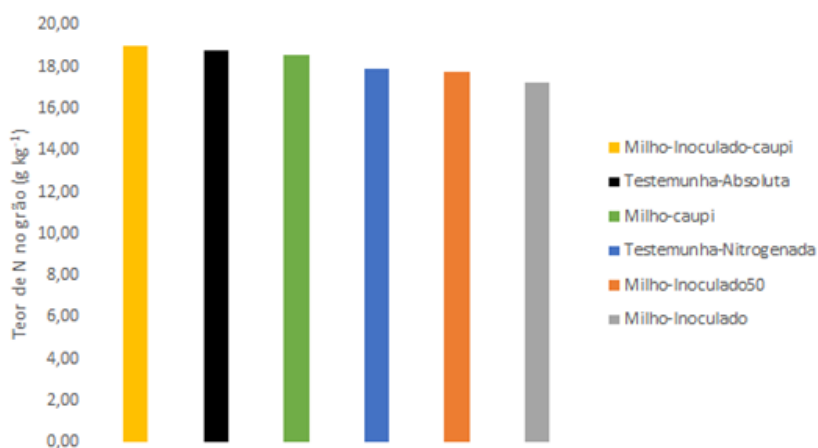


Figura 10. Teor de N nos grãos do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi com *Rhizobium* sp. aos 90 dias após o plantio (DAP)

Corroborando os resultados encontrado nesse estudo Lin et al. (2019) avaliando o efeito de rizobactérias promotoras de crescimento sob diferentes doses de N no crescimento do milho, não observaram diferenças significativas para os teores de N no milho inoculado com *Azospirillum*. Além disso, os autores não observaram interação entre N e *Azospirillum* para os teores de N no grão, indicando que esse efeito pode ter ocorrido devido ao efeito de diluição da maior biomassa do tecido vegetal. Resultados semelhantes também foram relatadas por Santos et al. (2010) avaliando o efeito da época de aplicação de N na forma de ureia enriquecida com ¹⁵N na presença e ausência de adubação com Mo, sob sistema de plantio direto. Os autores não encontraram diferenças significativas para o teor de N no grão em relação à época de aplicação do N.

4.7. Desenvolvimento e produtividade do milho verde

4.7.1. Diâmetro e comprimento da espiga com e sem palha

De maneira geral, o diâmetro das espigas, independente da palha, foi maior nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense*, sendo observado maiores valores de diâmetro com 57,52 e 46,79 mm no tratamento Milho-Inoculado50 e Milho-Inoculado-caupi com e sem palha, respectivamente (Figura 11A e B). Em média, a palha representou aumento de 21% no diâmetro das espigas. Os tratamentos que receberam inoculação com *A. brasilense* tiveram, em média, um incremento no diâmetro das espigas sem palha de 5% em relação aos tratamentos não inoculados. A inoculação com *A. brasilense* promoveu no consórcio Milho-Inoculado-caupi um aumento no diâmetro das espigas sem palha de 11% em relação ao consórcio Milho-caupi.

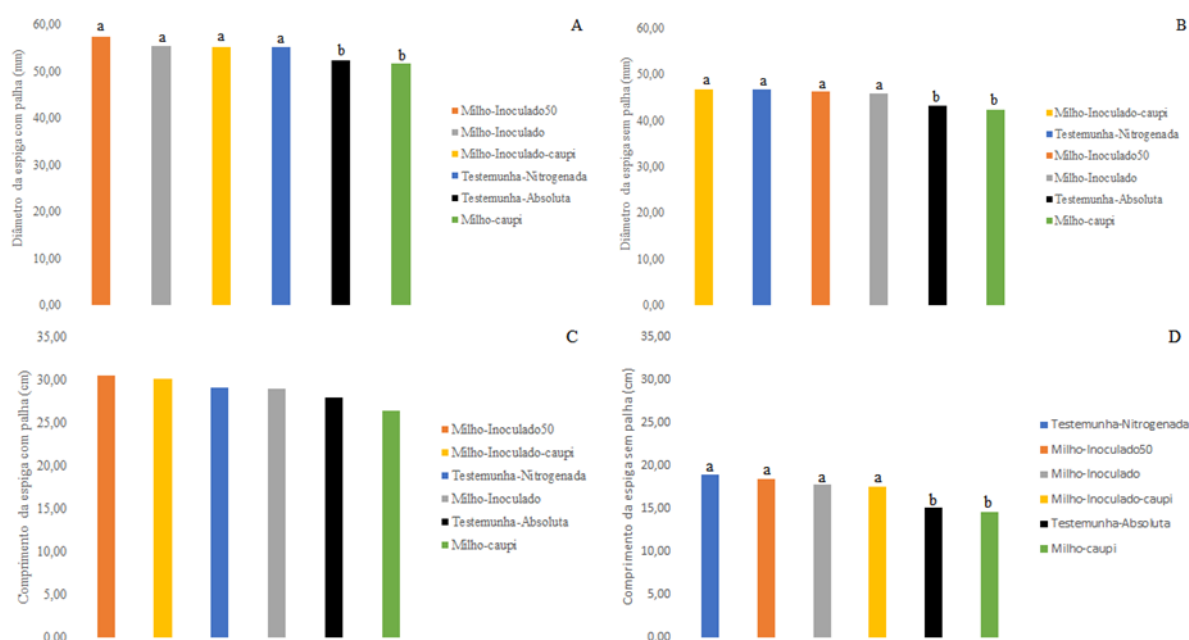


Figura 11. Diâmetro da espiga com palha (A) e sem palha (B); comprimento da espiga com palha (C) e sem palha (D) do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 90 dias após o plantio (DAP). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)

O consórcio Milho-Inoculado-caupi não apresentou diferenças significativas para o diâmetro das espigas sem palha em relação a Testemunha-Nitrogenada e o Milho-Inoculado-50 (Figura 11A e B), constatando que não houveram prejuízos no diâmetro das espigas, independente da palha, com a não utilização do N mineral, ressaltando as vantagens da utilização de bactérias promotoras de crescimento e fixadoras de N_2 atmosférico no consórcio milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. Com os

tratamentos não apresentando diferenças significativas, o produtor poderá aumentar seu lucro se beneficiando do feijão-caupi produzido no consórcio, além da não utilização de fertilizantes nitrogenado. Concomitante a isso, os ganhos ambientais e econômicos com a diminuição de adubos minerais são significativos.

Respostas positivas no aumento do diâmetro das espigas promovido pela inoculação com *Azospirillum* foram relatadas por Lana et al. (2017) avaliando o desenvolvimento e a produção da cultura do milho cultivado com diferentes doses de N, na presença e ausência de *Azospirillum*. Os autores observaram que o diâmetro de espiga respondeu linearmente ao aumento das doses de N até 200 kg ha⁻¹. No entanto, na presença de inoculação, houve um incremento de 23% em relação ao observado na ausência de inoculação. Por outro lado, Saldanha et al. (2017) avaliando o diâmetro e o comprimento das espigas de milho cultivado em sistema de monocultivo e consorciado, na ausência e presença de adubação mineral, observaram que a adubação mineral e o consórcio de milho e feijão-de-porco proporcionaram resultados significativos para o comprimento e diâmetro das espigas, indicando ainda que apenas o feijão-de-porco não é suficiente para suprir toda adubação nitrogenada necessária para o milho alcançar altas produtividades. Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2010), quando observaram que os maiores diâmetros e comprimento de espigas foram observados na presença da adubação nitrogenada. Esses trabalhos ressaltam ainda mais a importância da inoculação das bactérias do gênero (*Azospirillum* e *Rhizobium*) para diminuição do N mineral aplicado na cultura do milho, de modo a obter-se altos desempenhos e sustentabilidade dos cultivos agrícolas.

De modo geral, o comprimento das espigas com palha não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos avaliados (Figura 11C e D). O comprimento das espigas sem palha foi maior nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense*, sendo observada as maiores espigas na Testemunha-Nitrogenada (18,95 cm). Em média, a palha representou aumento de 69% no comprimento das espigas. Os tratamentos que receberam inoculação com *A. brasilsense* tiveram, em média, um incremento no comprimento das espigas sem palha de 10% em relação aos tratamentos não inoculados. A inoculação com *A. brasilense* promoveu no consórcio Milho-Inoculado-caupi um aumento no comprimento das espigas sem palha de 20% em relação ao consórcio Milho-caupi. Semelhante ao que ocorreu com o diâmetro das espigas, no consórcio Milho-Inoculado-caupi não observou-se diferenças significativas para o comprimento das espigas sem palha em relação a Testemunha-Nitrogenada e o Milho-Inoculado-50 (Figura 11D), ressaltando que também não houveram prejuízos no tamanho das espigas, com a não utilização de N mineral, reafirmando as vantagens da utilização

das bactérias promotoras de crescimento e fixadoras de N₂ atmosférico para o aumento do diâmetro e comprimento das espigas no consórcio milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculação com *Rhizobium* sp. como uma alternativa sustentável e econômica para diminuição do uso de fertilizantes nitrogenados. Trabalhos que corroboram estas informações foram discutidos em conjunto com o diâmetro das espigas (SANTOS et al., 2010; LANA et al., 2017; SALDANHA et al., 2017).

4.7.2. Produtividade do milho

De maneira geral, a produtividade das espigas foi maior nos tratamentos que receberam adubação nitrogenada e/ou inoculação com *A. brasilense*, tendo sua resposta mais expressiva de 11,24 Mg ha⁻¹ na Testemunha-Nitrogenada (Figura 12A). Os ganhos de produtividade proporcionado pela inoculação com *A. brasilense* foram, em média, de 13%. No entanto, esse ganho não foi significativo quando comparado com os tratamentos não inoculados (Figura 12B). Avaliando isoladamente os consórcios, observou-se que a inoculação com *A. brasilense* promoveu incremento de 30% na produtividade das espigas no consórcio Milho-Inoculado-caupi quando comparado com o consórcio Milho-caupi (Figura 12A).

Ganhos de produtividade com a inoculação de *A. brasilense* em milho também foram relatados por Lana et al (2017) os autores verificaram que a inoculação de *A. brasilense* proporcionou incrementos de 7 a 14% na produtividade de grãos de milho, mesmo sem a adição de N. Aumentos no rendimento de grãos de milho, quando as plantas foram inoculadas, juntamente com doses de 20-24 kg ha⁻¹ de N foram relatados por Hungria et al. (2010). Esse aumento de produtividade promovido pela inoculação com *A. brasilense* pode estar associado aos benefícios promovidos pelas bactérias promotoras de crescimento, que aumenta a quantidade de raízes finas, potencializando a absorção e o acúmulo de nutrientes pelas plantas, além da produção de fitohormônios, principalmente AIA, excretado pelo *Azospirillum*, que desempenham papel essencial na promoção do crescimento de plantas (BASHAN; DE-BASHAN, 2010).

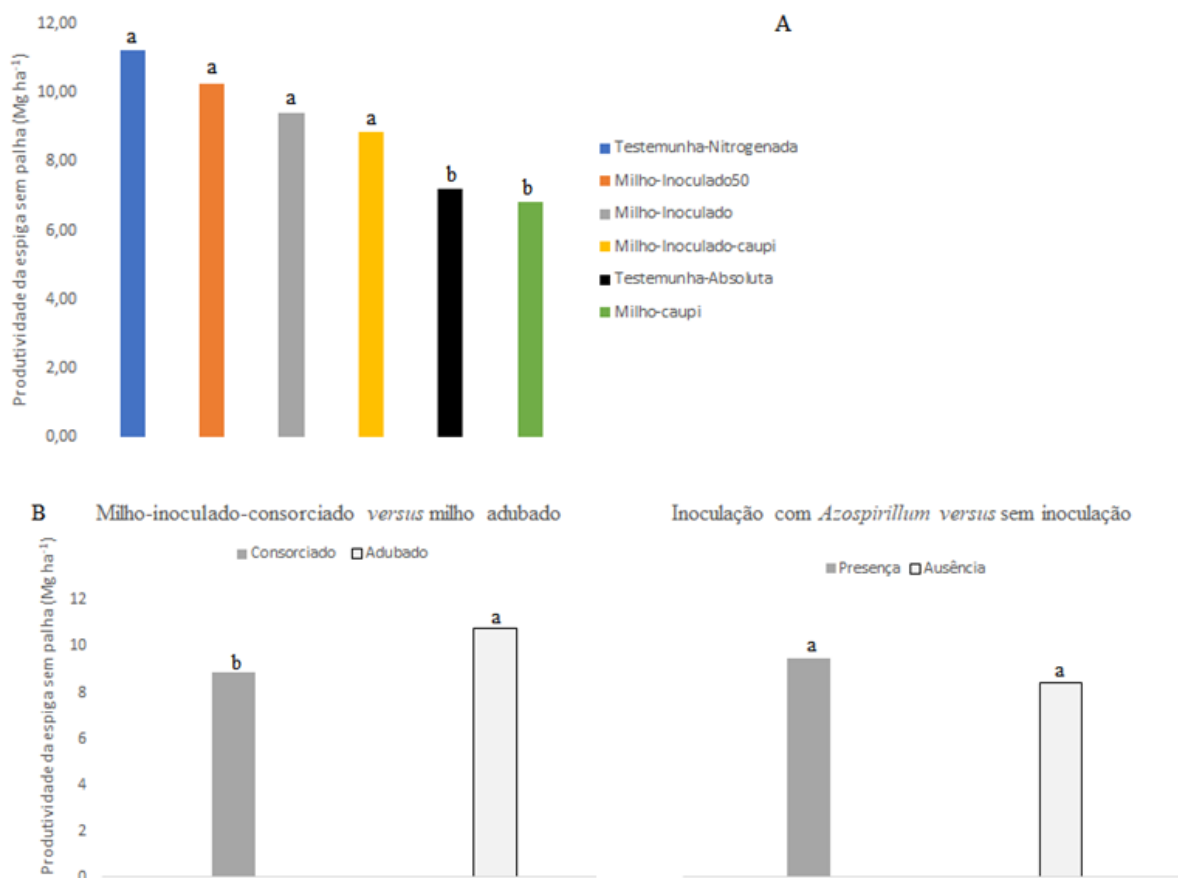


Figura 12. Produtividade do milho híbrido P3707VYH em função da inoculação com *A. brasilense*, adubação nitrogenada e consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. aos 90 dias após o plantio (DAP) (A); Contraste entre os tratamentos Milho-Inoculado-consorciado versus milho adubado e inoculados versus sem inoculação (B). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$)

Por mais que as plantas de milho no consórcio Milho-Inoculado-caupi tenham conseguido se desenvolver bem (Figura 1), produzir muita matéria seca (Figura 4) e acumular N (Figura 7) tão bem quanto os tratamentos adubados com N mineral, esses ganhos não foram convertidos para a produtividade das espigas (Figura 12B). Possivelmente as bactérias, que em sua fase de crescimento exponencial, se encontram na plenitude de suas capacidades de promover melhores condições para um rápido desenvolvimento do milho, que utilizou todo N disponível e hormônios para crescer e acumular matéria seca e posteriormente na fase de declínio das bactérias, as mesmas perderam atividade, o que pode ter causado a falta de N para se obter altas produtividades, visto que apenas 37% do N absorvido pelas plantas é redistribuído para os grãos, os 63% restante a planta continua absorvendo do solo (DEBRUIN; BUZEN, 2014). As plantas de milho no consórcio Milho-Inoculado-caupi teve sua demanda de N necessária para o crescimento, produção de matéria seca e acúmulo de N, mas não conseguiu

suprir toda a demanda necessária de N para se obter produtividade das espigas de milho equivalente as das plantas fertilizadas com N, sendo 21% inferior aos tratamentos nitrogenados (Figura 12B).

Entretanto, o consórcio milho inoculado com *A. brasilense* + feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. ainda é uma alternativa vantajosa para o agricultor familiar, que poderá se beneficiar também do feijão-caupi, além de evitar o uso de fertilizantes nitrogenados, que além do alto custo, seu manejo inadequado contribui para a contaminação do lençol freático por nitrato, bem como a poluição atmosférica através das reações dos óxidos nitroso, nítrico e da amônia (CHOUDHURY; KENNEDY, 2005). Adicionalmente, apresenta a vantagem de reduzir o insucesso do plantio até a colheita devido a utilização de mais de uma cultura, disponibilizando maiores opções de alimentos e propiciando maior eficiência do uso da terra e maior conservação do solo (CARVALHO et al., 2019).

5. CONCLUSÕES

A inoculação do milho com *A. brasilense* incrementou a promoção de crescimento vegetal, a produção de matéria seca e o acúmulo de N, bem como promoveu maior produtividade do milho verde;

O feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. em consórcio com milho inoculado com *A. brasilense* não prejudicou o desenvolvimento e a produtividade do milho;

O milho inoculado com *A. brasilense*, independente do consórcio com feijão-caupi inoculado com *Rhizobium* sp. ou suplementado com 50% de N, teve o crescimento e foi tão produtivo quanto o milho adubado com 100% da dose recomendada de N.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIMILHO. **O Cereal que enriquece a alimentação humana**. Disponível em: <<http://www.abimilho.com.br/milho/cereal>> Acesso em 20 de dezembro de 2019.
- APROSOJA. **A história do milho**. Disponível em: <<http://www.aprosoja.com.br/soja-e-milho/a-historia-do-milho>> Acesso em 20 de dezembro de 2019.
- AHLGREN, S.; BERNESSON S.; NORDBERG A.; HANSSON P. Nitrogen Fertiliser Production Based on Biogas – Energy input, environmental impact and land use. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 101, n. 18, p.7181-7184, 2010.
- ALMEIDA, M. L. de; SANGOI, L.; NAVA, I. C.; GALIO, J.; TRENTIN, P. S.; RAMPAZZO, C. Crescimento inicial de milho e sua relação com o rendimento de grãos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.2, p.189-194, 2003.
- ALLEN, R.G., PEREIRA, L.S., RAES, D., SMITH, M. Crop evapotranspiration -guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and drainage paper 56. **Food and Agriculture Organization**, Roma. 370p. 1998.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M. de; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ALVES, G. C.; VIDEIRA, S. S; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Differential Plant Growth Promotion and Nitrogen Fixation in Two Genotypes of Maize by Several *Herbaspirillum* Inoculants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 387, n. 1-2, p.307-321, 2014.
- AMIN, M. E. H. Effect of different nitrogen sources on growth, yield and quality of fodder maize (*Zea mays* L.). **Journal Of The Saudi Society Of Agricultural Sciences**, Riyadh, v. 10, n. 1, p. 17-23, 2011.
- ANDRADE, C. de L. T de.; AMARAL, T. A.; DUARTE, J. de O.; GARCIA, D. de F. S.; MARTINS, P. C. Simulated Yield and Net Return of a Maize Crop Fertilized with Different Sources and Rates of Nitrogen. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 11, n. 3, p.254-267, 2012.
- ARANTES, A. C. C.; FONTANETTI, A.; SILVA NETO, F.; PRÓSPERO, A. G.; PROVIDELLO, A.; FERNANDES, E. M. S. Crescimento e desenvolvimento de milho orgânico inoculado com *A. brasilense*. **Cadernos de Agroecologia**, Seropédica-RJ – ISSN 2236-7934 – Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF – v. 13, n. 1, 2018.
- ARANTES, A. C. C.; FONTANETTI, A.; FERNANDES, E. M. de S.; PRÓSPERO, A. G.; NOVELLI NETO, M. D. Fatores de produção do milho em consórcio com leguminosas forrageiras. **Cadernos de Agroecologia**, Seropédica-RJ – ISSN 2236-7934 – v. 10, nº 3, 2015.

BALIEIRO, F. C.; FRANCO, A. A.; PEREIRA, M. G.; CAMPELLO, E. F. C.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M.; ALVES, B. J. R. Dinâmica da serapilheira e transferência de nitrogênio ao solo, em plantios de *Pseudosamanea guachapele* e *Eucalyptus grandis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 6, p. 597-601, 2004.

BARROS, V. D. C. **Leguminosa como fonte de nitrogênio para milho em Pernambuco**. 2019. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth – a critical assessment. **Advances in Agronomy**, Newark, v. 108, p. 77-136, 2010.

BASHAN, Y.; HOLGUIN G.; DE-BASHAN L. E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, p. 521-577, 2004.

BELTRÃO, B. A.; MASCARENHAS, J. de C.; MIRANDA, J. L. F. de; JUNIOR, L. C. de S.; GALVÃO, M. J. da T. G.; PEREIRA, S. N. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea – Estado de Pernambuco: Diagnóstico do município de Passira**. CPRM – Serviço Geológico do Brasil, 2005.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003, 41p.

BONETTI, R. **Transferência de nitrogênio do feijão para o milho consorciado: avaliação pelo método de diluição isotópica do ¹⁵N e efeito da associação micorrizica**. 1991. 77 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – USP, Piracicaba, 1991.

BOURSCHEIDT, M. L. B.; PEDREIRA, B. C.; PEREIRA, D. H.; ZANETTE, M. C.; DEVENS, J. Estratégias de fornecimento de nitrogênio em pastagens: fertilizante mineral, inoculante bacteriano e consórcio com amendoim forrageiro. **Scientific Electronic Archives**, Rondonópolis, v.12, n.2, 2019.

CARLSSON, G.; HUSS-DANELL, K. Does nitrogen transfer between plants confound ¹⁵N based quantifications of N₂ fixation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 374, p. 345-358, 2014.

CARVALHO, F. L. de C.; JÚNIOR, L. B. B.; SOUSA, R. R. de; ARAÚJO, R. L. de; ARAÚJO, N. B. P.; VERAS, F. H. C.; SILVA, R. B. da; SILVA, S. de D. da. Avaliação da adubação verde com leguminosas em cultivo consorciado com a cultura do milho (*Zea mays* L.). **Global Science and Technology**, Rio Verde, v.12, n.2, p.116-127, 2019.

CASSETARI, A. de S.; SILVA, M. C. P. da; CARDOSO, E. J. B. N. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. cap. 8, p. 113-129.

CASTRO, A. M. C.; PREZOTTO, A. L. Desempenho agronômico do milho em sistema de adubação verde. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechael Cândido Rondon, v.1, n.2, p.35-44, 2008.

CEREZINI, P.; KUWANOA, B. H.; SANTOS, M. B.; TERASSI, F.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. N. Strategies to promote early nodulation in soybean under drought. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 196, p. 160-167, 2016.

CHIBEBA, A. M.; GUIMARÃES, M. F.; BRITO, O. R.; NOGUEIRA, M. A.; ARUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 6, n. 10, p. 1641-1649, 2015.

CHOUDHURY, A. T. M. A.; KENNEDY, I. R. Nitrogen Fertilizer Losses from Rice Soils and Control of Environmental Pollution Problems. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 36, p. 1625-1639, 2005.

CONAB (2014) – **Safras/Séries Históricas**. Brasília. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 20 dez. 2019.

CONAB (2019) – **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 7 – Safra 2019/2020, n. 3 – Terceiro levantamento. Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília. p. 1-28.

CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGHI, E.; MIRANDA, R. A. de; SILVA, A. F. da; SILVA, D. D. da; MACHADO, J. R. de A.; COTA, L. V.; COSTA, R. V. da; MENDES, S. M. Milho – Caracterização e Desafios Tecnológicos. Brasília, DF: **Embrapa**, 2019.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DEBRUIN J.; BUTZEN S. Nitrogen Uptake in Corn. Crop Insights. **Dupont Pioneer Agronomy Sciences**, California, v. 24, n. 4, 2014.

DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; RESENDE, A. S.; URQUIAGA, S.; ROCHA, G. P.; MOREIRA, J. F. FRANCO, A. A. Transferência do N fixado por leguminosas arbóreas para o capim *Survenola* crescido em consórcio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 352-356, 2007.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v. 22, p. 107-149, 2003.

EMBRAPA. **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 3 ed. Brasília, DF: Embrapa Solos, 2017. 575 p.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília, DF: Embrapa Solos, 2018. 590 p.

ESPINDOLA, J. A. A.; GUERRA, J. G. M.; PERIN, A.; TEIXEIRA, M. G.; ALMEIRA, D. L.; URQUIAGA, S. BUSQUET, R. N. B. Bananeiras consorciadas com leguminosas herbáceas perenes utilizadas como coberturas vivas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 3, p. 415-420, 2006.

FAOSTAT (**Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division**). 2016. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>> Acesso em: 15 mai. 2019.

FERNANDES, F. D.; CHAVES, L. H. G.; MONTEIRO FILHO, A. F.; VASCONCELLOS, A.; SILVA, J. R. P. Crescimento e produtividade de milho sob influência de parcelamento e doses de nitrogênio. **Revista Espacios**, Caracas, v. 38, n 08, p. 27, 2017.

FLORES, R. A.; URQUIAGA, S. S.; ALVES, B. J. R.; COLLIER, L. S; MORAIS, R. F. de; PRADO, R. de M. Adubação nitrogenada e idade de corte na produção de matéria seca do capim-elefante no Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 12, p.1282-1288, 2012.

GUIMARÃES, D. P.; SANS, L. M. A.; MORAES, A. V. de C. Estimativa da área foliar de cultivares de milho. **XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo** – Florianópolis – SC, 2002.

GROSS, M. R.; VON PINHO, R. G.; BRITO, A. H. Adubação nitrogenada, densidade de semeadura e espaçamento entre fileiras na cultura do milho em sistema plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 3, p. 387-393, 2006.

HAMD-ALLA, W. A.; SHALABY, E. M.; DAWOOD, R. A.; ZOHRY, A. A. Effect of Cowpea (*Vigna sinensis* L.) with Maize (*Zea mays* L.) Intercropping on Yield and Its Components. **International Journal of Biological, Veterinary, Agricultural and Food Engineering**, Jaipur, v. 108, n. 11, p. 1240 - 1246, 2014.

HAWES, M. C.; GUNAWARDENA, U.; MIYASAKA, S.; ZHAO, X. The Role of Root Border Cells in Plant Defense. **Trends In Plant Science**, London, v. 5, n. 3, p.128-133, 2000.

HAWKESFORD, M. J. Reducing The Reliance on Nitrogen Fertilizer for Wheat Production. **Journal Of Cereal Science**, Manhattan, v. 59, n. 3, p.276-283, 2014.

HUNGRIA, M. Inoculação com *A. brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: **Embrapa Soja**, 2011. 36p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUA, E. M. S.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *A. brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Nutrition**, California, v. 6, n. 6, p. 811-817, 2015.

KANDEL, S.; JOUBERT, P.; DOTY, S. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. **Microorganisms**, Basel, v. 5, n. 4, p. 77-103, 2017.

KOTOWSKI, I. E. **Avaliação da eficiência agrônômica do inoculante a base de *A. brasilense* na cultura do milho**. 2015.

LANA, R. M. Q.; QUEIROZ, D. de S.; TORRES, J. L. R.; FERREIRA, A. de S.; FARIA, M. V. de; SIQUEIRA, T. P. Associação entre doses de nitrogênio e inoculação das sementes com bactérias diazotróficas no milho. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, v 116, p. 171-178, 2017.

LIN, Y. R., WATTS, D.B., KLOEPPER, J.W., ADESEMOYE, A. O.; FENG, Y. C. Effect of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria at Various Nitrogen Rates on Corn Growth. **Agricultural Sciences**, California, v. 10, p. 1542-1565, 2019.

LIPÓRIO, P. H. S.; TORNELI, I. M. B.; NÓBILE, F. O. de; GUERREIRO, R. D.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. da. Avaliação de híbridos de milho quanto a inoculação e adubação nitrogenada. **Ciência e Tecnologia**, Jaboticabal, v. 7, p. 5, 2015.

LOUARN, G.; PEREIRA-LOPÈS, E.; FUSTEC, J.; MARY, B.; VOISIN, A. S.; CARVALHO, P. C de F.; GASTAL, F. The amounts and dynamics of nitrogen transfer to grasses differ in alfalfa and white clover-based grass-legume mixtures as a result of rooting strategies and rhizodeposit quality. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 389, n. 1-2, p. 289-305, 2015.

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F. J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Maize growth promotion by inoculation with *A. brasilense* and metabolites of *Rhizobium tropici* enriched on lipo-chitoooligosaccharides (LCOs). **AMB Express**, London, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2015.

MOREIRA, A.; MOTTA, A. C. V.; COSTA, A.; MUNIZ, A. S.; CASSOL, L. C.; ZANÃO JÚNIOR, L. A.; BATISTA, M. A.; MÜLLER, M. M. L.; HAGER, N.; PAULETTI, V. 2ª Ed. **Manual de adubação e calagem para o Estado do Paraná**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 482, 2017.

MULLER, T. M., BAZZANEZI, A. N., VIDAL, V., TUROK, J. D. N., RODRIGUES, J. D., SANDINI, I. E. Inoculação de *A. brasilense* no tratamento de sementes e sulco de semeadura na cultura do milho. **XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO** - Águas de Lindóia, 2012.

MUNDSTOCK, C. M.; SILVA, P. R. **Manejo da cultura do milho para altos rendimentos de grãos**. Departamento de plantas de lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Evangraf. Porto Alegre-RS, 2005. p. 49.

PARTELLI, F. L.; ESPÍNDOLA, M. C.; MARRÉ, W. B.; VIEIRA, H. D. Dry matter and macronutrient accumulation in fruits of conilon coffee with different ripening cycles. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, n. 1., p.241-222, 2014.

PAULA, R. R. **Processos de transferência de N em curto e longo prazo em plantios mistos de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mangium***. 2015. 142 f. Tese (Doutorado em Ciências. Programa: Recursos Florestais. Opção em: Silvicultura e Manejo Florestal) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2015.

PAULINO, G. M. ALVES, B. J. R.; BARROSO, D. G.; URQUIAGA, S.; ESPINOLA, J. A. A. Fixação biológica e transferência de nitrogênio por leguminosas em pomar orgânico de mangueira e gravioleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 12, p. 1598-1607, 2009.

PAVÃO, A. R.; FERREIRA FILHO, J. B. de S. Impactos econômicos da introdução do milho Bt11 no Brasil: uma abordagem de equilíbrio geral inter-regional. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 49, n. 1, p. 81-108, 2011.

PAZ, L. B. da; GALLO, A. de S.; SOUZA, R. de L.; OLIVEIRA, L. V. N. de; CUNHA, C. da; SILVA, R. F. da. Performance and productivity of winter maize intercropped with legumes in an organic system. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 40, n. 4, p. 100-109, 2017.

PINHO, R. G. V.; BORGES, I. B.; PEREIRA, J. L. D. A.; REIS, M. C. D. Marcha de absorção de macronutrientes e acúmulo de matéria seca em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.8, n.2, p. 157-173, 2009

QUADROS, P. D. de; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F. da; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. de O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

RAMOS, A. S.; SANTOS, T. M. C.; SANTANA, T. M. de; GUEDES, E. L. R.; MONTALDO, Y. C. Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, p. 113-117, 2010.

RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J. P.; GARCIA-CASAL, M. N. Global Maize Production, Utilization, and Consumption. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, Nova York, v. 1312, n. 1, p.105-112, 2014.

RECOMENDAÇÕES de adubação para o Estado de Pernambuco. 2.ed. Recife: IPA, 2008. 198p.

REIS JUNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 1139-1146, 2008.

RIBEIRO, B. G. **O índio na cultura brasileira**. 1.ed. – Rio de Janeiro, Fundação Darcy Ribeiro, 2013. p. 20-38.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. **Potafos**, Piracicaba, v. 103, p. 1-20, 2003.

ROBERTS, T. L.; SLATON, N. A.; KELLEY, J. P.; GREUB, C. E.; FULFORD, A. M. Fertilizer Nitrogen Recovery Efficiency of Furrow-Irrigated Corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 108, n. 5, p. 2123-2128, 2016.

SABUNDJIAN, M. T.; ARF, O.; KANEKO, F. H.; FERREIRA, J. P. Adubação nitrogenada em feijoeiro em sucessão a cultivo solteiro e consorciado de milho e *Urochloa ruziziensis*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v. 43, n. 3, p. 292- 299, 2013.

SALDANHA, E. C. M.; SILVA JÚNIOR, M. L.; ALVES, J. D. N.; MARIANO, D. C.; OKUMURA, R. S. Consórcio milho e feijão-de-porco adubado com NPK no nordeste do Pará. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v.10, n.01, p.20, 2017.

SANTOS, L. P. D. dos; AQUINO, L. A.; NUNES, P. H. M. P.; XAVIER, F. O. Doses de Nitrogênio na Cultura do Milho para Altas Produtividades de Grãos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p.270-279, 2013.

SANTOS, M. M; GALVÃO, J. C. C.; SILVA, I. R.; MIRANDA, G. V.; FINGER, F. L. Épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do milho em plantio direto, e alocação do nitrogênio (¹⁵n) na planta. **Revista Brasileira de Ciência Solo**, Viçosa, v. 34, n. 4, p. 1185-1194, 2010.

SANTOS, M. A.; BATISTA, P. S. C.; LOPES, M. F.; SILVA, M. G. de M.; BERTO, A. L. F. Desempenho agrônômico de milho consorciado com feijão-de-corda em diferentes populações e arranjos de plantas no semiárido mineiro. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 10, n. 3, p. 201-208, 2016.

SANTOS, P. A.; SILVA, A. F.; CARVALHO, M. A. C.; CAIONE, G. Adubos verdes e adubação nitrogenada em cobertura no cultivo do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.9, n.2, p.123-134, 2010.

SANTOS, R. L.; FREIRE, F. J.; TRIVELIN, P. C. O. Changes in Biological Nitrogen Fixation and Natural-Abundance N Isotopes of Sugarcane Under Molybdenum Fertilization. **Sugar Tech**, Nova Deli, v. 21, n. 6, p. 925-935, 2019.

SILVA, S. K. **Fixação e transferência de nitrogênio em cultivos consorciados e solteiros de gramíneas e leguminosas**. 2018. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed. 2017. 888 p.

VELOSO, M. E. da C.; DUARTE, S. N.; NETO, D. D.; SILVA, E. C. da; PEREIRA, C. R. Teor de nitrogênio, índices de área foliar e de colheita, no milho, em função da adubação nitrogenada, em solo de várzea. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.8 n.1, p. 13-25, 2009

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. Brasília: Embrapa, 2017. p. 163.

WESTGATE, M. E.; FORCELLA, F.; REICOSKY, D. C.; SOMSEN, J. Rapid canopy closure for maize production in the northern US corn belt: Radiation-use efficiency and grain yield. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.49, n.2, p.249-258, 1997.

WOLFINGER, R.; CHANG, M. Comparing the SAS.1 GLM and MIXED procedures for repeated measures. In Proc. 20th Ann. **SAS Users Group Conf.**, pp. 1–11, 1995.

YAN, P.; PAN, J.; ZHANG, W.; SHI, J.; CHEN, X.; CUI, Z. A high plant density reduces the ability of maize to use soil nitrogen. **Plos One**, São Francisco, v. 12, n. 2, p. 1-12, 2017.